

Biotekniken - ett expansivt forskningsområde med intressanta applikationer för totalförsvaret

Sammanställd av Britt-Marie Kihlberg och Lena Norlander

Biotekniken - ett expansivt forskningsområde med intressanta applikationer för totalförsvaret

Sammanställd av Britt-Marie Kihlberg och Lena Norlander

Författare inom FOI NBC-skydd:

Anders Bucht
Göran Bucht
Mats Forsman
Anna Holmström
Inga Gustafson
Ann Göransson Nyberg
Britt-Marie Kihlberg
Thomas Kjellström
Anders Lindblad
Susanne Lundberg
Lena Norlander
Torbjörn Tjärnhage
Per Wikström

Externa författare:

Leif Carlsson
Urban Kumlin
Peter Lindblad
Fredrik Piehl
Artur Schmidtchen
Anders Sjöstedt
Anders Sondén
Göran Wendin

* annan adress, se adresslistan

TOTALFÖRSVARETS FORSKNING SINSTITUT
NBC-skydd
901 82 Umeå

FOI-R--0842--SE
Maj 2003
ISSN 1650-1942
Användarrapport

Biotekniken - ett expansivt forskningsområde med intressanta applikationer för totalförsvaret

Sammanställd av Britt-Marie Kihlberg och Lena Norlander

Författare inom FOI NBC-skydd:

Anders Bucht
Göran Bucht
Mats Forsman
Anna Holmström
Inga Gustafson
Ann Göransson Nyberg
Britt-Marie Kihlberg
Thomas Kjellström*
Anders Lindblad
Susanne Lundberg
Lena Norlander
Torbjörn Tjärnhage
Per Wikström

Externa författare:

Leif Carlsson
Urban Kumlin
Peter Lindblad
Fredrik Piehl
Artur Schmidtchen
Anders Sjöstedt
Anders Sondén
Göran Wendin

* annan adress, se adresslistan

Adresslista:

Leif Carlsson
Umeå Center för Molekylärmedicin
By. 6M. Vån. 4
Umeå Universitet
901 87 Umeå

Thomas Kjellström
SöS/FOI Försvarsmedicin
Experimentell traumatologi
118 83 Stockholm

Urban Kumlin
Virologi
Klinisk mikrobiologi
Norrlands universitetssjukhus
901 85 Umeå

Peter Lindblad
Avd för Fysiologisk botanik, EBC
Uppsala universitet
Villavägen 6
752 36 Uppsala

Fredrik Piehl
Centrum för molekylär medicin (CMM)
L8:04, Karolinska sjukhuset
171 76 Stockholm

Anders Sjöstedt
Klinisk bakteriologi
Klinisk mikrobiologi
Norrlands universitetssjukhus
901 85 Umeå

Artur Schmidtchen
Lunds Universitet
Avdelningen för dermatologi
Biomedicinskt Centrum, B14
Tornavägen 10
221 84 Lund

Anders Sondén
Experimentell traumatologi
Byggnad D, 3 tr, Södersjukhuset
118 83 Stockholm

Göran Wendin
Avd f Mikroelektronik och Nanovetenskap - MINA
Mikroteknologiceentrum vid Chalmers - MC2
Chalmers tekniska högskola
412 96 Göteborg

Innehåll

1	Inledning.....	11
2	Aktuella forskningsområden inom det biotekniska fältet - Grundläggande tekniker och begrepp	13
2.1	Kartläggning av arvs massa och funktionsgenomisk forskning ger kunskap om komplexa biologiska system.....	14
2.2	Stamceller	18
2.3	Genterapi.....	21
2.4	Produktionssystem för läkemedel, vacciner och funktionell föda.....	24
2.5	Administreringssystem för läkemedel	26
2.6	Nanoteknologi.....	31
3	System för att påvisa, identifiera och mäta substanser och organismer.....	37
3.1	Biosensorer	37
3.2	Identifiering av biologiska stridsmedel och andra sjukdomsalstrande organismer	45
4	Förebyggande medicinsk behandling och prestationshöjande åtgärder.....	51
4.1	Vaccinutveckling för framtiden.....	52
4.2	Funktionell föda.....	57
5	Behandling av infektioner, förgiftningar, sår-, kropps- och nervskador.....	61
5.1	Den framtida sjukdomsdiagnosen.....	62
5.2	Farmakogenomik	66
5.3	Behandling av infektioner.....	67
5.4	Bioteknik och kemiska exponeringar	73
5.5	Bioteknik och traumatiska kroppsskador.....	76
5.6	Behandling av sårskador.....	79
5.7	Behandling av traumatiska skador i nervsystemet	83
6	Utveckling av biomaterial	89
7	Molekylär elektronik - bioelektronik - biodatorer.....	95
8	Miljösanering.....	103
9	Biologiska energikällor: Förnyelsebar vätgas, morgondagens energibärare från biologiska system?.....	107
10	Teknikutvecklingens inverkan på hotbilden avseende biologiska och kemiska stridsmedel.....	113
11	Diskussion och bedömning av applikationer för totalförsvaret	117
	Bilaga 1 - Ordlista.....	123
	Bilaga 2 - Litteratur.....	127
	Dokumentdatablad svenskt.....	137
	Dokumentdatablad engelskt.....	138

Förord

Denna rapport utfördes på uppdrag av den Strategiska forskningskärnan inom FOI i syfte att klarlägga vilka bioteknikområden som utvecklas starkt i dagsläget och vilka av dessa områden som har intressanta applikationer för svenskt totalförsvar. Avsikten var att översiktligt beskriva de utvalda områdena dock utan ambitionen att vara heltäckande. Inledningsvis gjordes en preliminär genomgång och urval av olika delområden som bedömdes som relevanta för frågeställningen. Olika författare, både interna och externa experter, har därefter utarbetat underlag inom dessa områden och en bedömning av hur utvecklingen kan förväntas bli på 5 till 15 års sikt har tillförts.

I syfte att göra rapporten tillgänglig för en bred läsekrets inleds varje kapitel med en kortfattad summering av de olika delkapitlen. För att ytterligare underlätta läsningen inleds rapporten med kapitel som behandlar grundläggande tekniker och begrepp inom det biotekniska fältet. Därefter presenteras kapitelvis olika tillämpningar, exempelvis förebyggande respektive akut medicinsk behandling och utveckling av biomaterial. Det är författarnas förhoppning att rapporten ska utgöra både en lättläst översikt för lekmannen och en uppdatering av olika delområden för den initierade läsaren. I bilaga 1 har en ordlista infogats för att underlätta läsningen och de referenser som ligger till grund för de olika kapitlens innehåll finns i bilaga 2.

Sammanfattning

Rapporten ger en översikt över utvecklingen avseende bioteknologi och de applikationer som denna förväntas generera inom 15 år. Många av de tillämpningar som beskrivs i rapporten bedöms vara av framtida intresse för svenskt totalförsvaret. Bioteknik är ett brett verksamhetsområde vars applikationer spänner över ett flertal fält. En generell trend inom bioteknikassocierade forskningsområden är att teknikerna har förfinats och blivit mer avancerade och att synergieffekterna mellan olika områden är påtagliga. Exempelvis har de snabba och parallella utvecklingarna inom genetisk forskning och datorområdet medfört helt nya förutsättningar för diagnos av sjukdomar och läkemedelsutveckling. Ett annat exempel är utvecklingen inom nanoteknologin som innebär att biotekniska analysinstrument kan miniaturiseras och integreras till små enheter, s.k. lab-on-a-chip. Det medför i framtiden nya koncept för bl.a. läkemedelsdistribution i kroppen och miniaturisering av biosensorer för kliniskt bruk. Utvecklingen av biosensorer och chipteknologin har genererat applikationer som kan utnyttjas i dag eller i en nära framtid, t.ex. för identifiering av biologiska och kemiska stridsmedel och som personliga diagnostiska sensorer för diagnos av sjukdomar. På sikt, 10-20 år, kan det även finnas kroppssensorer som kopplats till distribution av läkemedel.

Andra applikationer av biotekniken är utveckling av biomaterial. Artificiellt blod finns som prototyp idag och kliniska försök görs med artificiell hud för sårbehandling. Svampar för sanering av kemiska stridsmedel har utvecklats. På längre sikt kommer alternativa textilfibrer att framställas, exempelvis av spindelsilke, vilket kan utnyttjas för mer effektiva skyddsmaterial. I ett betydligt längre perspektiv (> 20 år) kommer även biomaterial att användas inom elektronikområdet.

Funktionell föda är resultatet av en annan av bioteknikens tillämpningar. Redan idag finns näringsberikade produkter och i framtiden kan sådana produkter förväntas ha en prestationshöjande effekt genom sin optimala sammansättning (välbalanserad, näringsriktig, högt energiinnehåll). Begreppet funktionell föda innefattar även modifiering av växter till vaccinproducenter ("ätbara" vacciner).

Biotekniken har haft stor inverkan på utvecklingen av läkemedel och många av dagens läkemedel, t.ex. tillväxthormoner och antibiotika, är biotekniskt framställda. I syfte att reducera skador i människans organ och vävnader kommer läkemedel i större omfattning att produceras i växter och djur. I framtiden förväntas möjligheterna att förebygga och behandla infektionssjukdomar förbättras som ett resultat av den omfattande kartläggningen av människans och en mängd smittämners arvs massa. Det innebär att nya läkemedel, vacciner och diagnostiska verktyg kan utvecklas. Utveckling av sensorer för tidig sjukdomsdiagnos pågår och i framtiden kommer det att vara möjligt urskilja personer som har nedärvt risk för att drabbas av specifika sjukdomar och biverkningar av läkemedel. På lång sikt finns det en förhoppning att sjukdomar ska vara möjliga att behandla genom att den felande arvs massan repareras genom s.k. genterapi. Idag pågår kliniska tester av genterapi av tillväxtfaktorer till sår för att påskynda sår läkning. För framtiden finns förhoppningar att genterapi och stamcells forskning ska kunna bidra till en förbättrad möjlighet att behandla traumatiska kroppsskador.

Biotekniken har även inverkan på områden som bionedbrytning och utveckling av alternativa energikällor, t.ex. väteproducerande bakterier. Miljögifter kan oskadlig-

göras av mikroorganismer och i framtiden finns förhoppningen att genmanipulerade växter ska kunna användas för att sanera starkt förorenade områden.

1 Inledning

Ett av de mest expansiva teknikområdena under de senaste decennierna är bioteknologin. Bioteknologi (bioteknik) definieras enligt European Federation for Biotechnology som en syntes av biokemi, mikrobiologi och ingenjörsvetenskap med syfte att tekniskt utnyttja egenskaper hos mikroorganismer, cell- och vävnadskulturer eller beståndsdelar från celler. Utnyttjandet av bakterier och jäst för tillverkning av bröd, öl och vin är exempel på biologiska processer som utnyttjats tekniskt långt före det att bioteknik blev ett definierat område. Bioteknologi blev ett eget område först efter det att man hade upptäckt enzymer och vi lärt oss att isolera dessa från naturligt förekommande bakterier och utnyttja enzymer för olika ändamål. En del av dessa enzymer används för att manipulera arvsanlag, s.k. genteknik, vilket är en av grundpelarna för bioteknologin. De första experimenten som publicerades under 1970-talet öppnade möjligheter att närmare studera hur arvsmassan (DNA) i celler var organiserad. Den fortsatta utvecklingen gjorde det möjligt att uttrycka artfrämmande DNA i bakterier och jäst genom att arvs massa kunde isoleras från en organism och sedan sättas ihop med DNA från andra organismer till s.k. rekombinant DNA. Detta öppnade möjligheten till storskalig produktion med hjälp av genetiskt modifierade organismer (bakterier, jäst eller celler från människa eller andra däggdjur) av tidigare svårframställda biologiskt aktiva ämnen, även i förhållandevis små produktionsanläggningar. Som exempel kan nämnas olika läkemedel som hormoner och antibiotika.

Den enorma kartläggningen av arvsanlag har genererat nya forskningsområden som är inriktade på att förstå hur olika delar av arvsanlagen fungerar, vilka produkter de ger och hur dessa kan utnyttjas för att förstå biologiska processer och behandla olika sjukdomar. Detta har bl.a. bidragit till förhoppningar om att genetiska och cellbaserade behandlingsmetoder som genterapi och stamcellstransplantation ska kunna utvecklas vidare för behandling av idag svårbehandlade sjukdomar. Nya metoder baserade på informationen i arvsanlagen har också lett till utveckling av komplexa system för snabbare diagnos av sjukdomar.

Utvecklingen av vacciner har starkt påverkats av framstegen inom biotekniken. De nyaste koncepten rör komponentvacciner, DNA-vacciner och orala vacciner i form av transgena växter i vilka önskvärda komponenter produceras. Transgena djur och växter utnyttjas också för att förbättra födoämnen, s.k. funktionell föda (functional food) och kvantitet av skördar. Kina, som har en starkt växande befolkning, har insett värdet av biotekniken för att klara framtidens matförsörjning och är ett av de mest framstående länderna i världen när det gäller att utnyttja modern teknologi för att förbättra skördarna. Framställning av funktionell föda innebär att ett dagsbehov av näringsämnen kan erhållas från en betydligt mindre mängd föda.

Andra framtida applikationer med koppling till bioteknik är framställning av biomaterial för behandling av kroppsskada, samt biomaterial för tillverkning av bl.a. skyddsutrustning med förbättrade egenskaper. Dessutom har biotekniken påverkat utvecklingen inom miljösaneringsområdet.

Ett aktuellt forskningsområde som har starka kopplingar till bioteknikutvecklingen är nanovetenskapen. Nanovetenskapen, som handlar om att utforma och manipulera material och struktur i storleksordningen 1-100 nanometer¹, karaktäriseras av en

¹ 1 nanometer motsvarar 1/1000 000 000 meter

mycket snabb tillväxt. Hittills har nanovetenskapen främst inneburit framsteg inom materialvetenskapen. Nu börjar biologer, kemister och fysiker att tala samma språk, vilket innebär att de potentiella användningsområdena för nanotekniken spänner över ett flertal teknikområden med kopplingar till biologiområdet, t.ex. bioteknik och bioelektronik. Den pågående utvecklingen ger upphov till helt nya tvärvetenskapligt inriktade studier av biomolekylära och cellulära mekanismer och processer, vilket öppnar nya spännande möjligheter för praktiska tillämpningar. Redan idag finns stora potentialer för applikationer såsom medicinska implantat, artificiell vävnad, biochip för diagnostik och biosensorer. Framtida tillämpningar kan exempelvis utgöras av utveckling av instrument baserade på molekylär elektronik som fungerar som gränssnitt mellan elektronik och nerver.

Sverige tillhör de länder där området bioteknik globalt sett har utvecklats förhållandevis starkt, speciellt under de senaste åren. Detta har skett bl.a. p.g.a. en nära koppling mellan den akademiska världen och företagsvärlden. Ett antal framgångsrika forskningsparkar har byggts upp och för exempelvis Novum forskningspark i Huddinge finns planer för en utvidgning, vilket kan göra denna till en av världens största forskningsparkar. Ytterligare en intressant region i Sverige är Öresundsområdet, det s.k. Medicon valley, där bioteknikrelaterade svenska och danska företag runt Öresund försöker göra området till ett attraktivt medicinskt bioteknikcenter.

I dagsläget investerar flera olika bidragsgivare stora summor pengar inom olika bioteknikrelaterade områden. Exempelvis satsar EU inom ramen för det sjätte ramprogrammet 5 % av EU's samlade FoU-medel på bl.a. genforskning och bioteknik för hälsa samt nanoteknik, intelligenta material och nya produktionsprocesser. Under det senaste decenniet har dock universitetens budget sjunkit, vilket har lett till att de har sökt nya vägar för finansiering, bl.a. genom kommersiella enheter och ökat samarbete med industrin. Nyligen bildades i Sverige också ett nationellt nätverk för nanovetenskap och nanoteknik som ett sätt att öka utbytet mellan universiteten och industrin. Detta nätverk inriktar sig främst på de tre huvudområdena bioteknik, material och IT.

Under de senaste åren har också många nya bioteknikföretag bildats. En viktig förutsättning har varit att forskare på universiteten i Sverige äger resultatet av sin forskning, vilket är nästan unikt för Sverige. En annan bidragande faktor är att större företag har rationaliserat bland sina projekt, vilket har lett till att många företag har bildats genom avknoppning från det större företaget. Dock är de flesta bioteknikföretag som finns i Sverige idag förhållandevis små, de flesta har mindre än 10 anställda.

Mycket av den utveckling som pågår idag kommer sannolikt att leda till tillämpningar som är användbara för det svenska totalförsvaret. I den föreliggande rapporten görs en genomgång av var den biotekniska utvecklingen inom relevanta forskningsområden befinner sig och de applikationer som kan bli relevanta inom det närmaste decenniet presenteras.

Risken för missbruk av biotekniken och relaterade tekniker har ökat under det senaste decenniet då de blivit allmänt spridda och det finns en mängd kommersiella hjälpmedel inom forskningen. I rapporten behandlas även risken för att teknikutvecklingen utnyttjas för framställning av nya eller förbättrade kemiska och biologiska stridsmedel.

2 Aktuella forskningsområden inom det biotekniska fältet - Grundläggande tekniker och begrepp

En generell trend inom de forskningsområden som är mest aktuella inom biotekniken idag är att teknikerna har förfinats och blivit mer avancerade. En annan trend är att olika forskningsområden nu börjar hitta synergier med varandra. Exempel på detta är synergin mellan genetisk forskning och utveckling av datorer och datorprogram, vilket bl.a. har bidragit till att informationen i den mänskliga arvsmassan tolkats mycket snabbare än någon hade kunnat förutsäga. Ett annat exempel är att den tekniska utvecklingen har lett till att forskningen kring byggstenarna inom områdena biologi, kemi och fysik närmar sig varandra. Det har bl.a. resulterat i utveckling av forskningsområdet nanoteknologi där man på molekylär nivå nu kan studera och skapa nya strukturer med nya egenskaper.

Kartläggningen av olika organismers arvs massa har ingivit förhoppningar om stora framsteg framför allt inom det medicinska fältet. Tillgången till information om alla arvsanlag hos en människa och ett stort antal andra organismer i kombination med avancerade tekniska analysinstrument gör det nu möjligt att studera hela arvsanlaget och dess produkter vid ett och samma tillfälle. Detta innebär helt nya möjligheter att klarlägga mekanismer bakom olika biologiska processer, som exempelvis olika sjukdomsförlopp hos människor eller försvarsmekanismer vid skada eller infektion. Detta kan i sin tur leda till nya typer av behandling för olika skador och sjukdomar. Speciellt ställs stora förhoppningar till utnyttjandet av stamceller och genterapi för att bota sjukdomar eller reparera skador där det idag inte finns någon bra behandlingsmetod. Idag finns dock enbart en enda fungerande stamcellsterapi som också används i rutinbehandling och det är benmärgstransplantation. Lyckade genterapiförsök har utförts, men en del svårlösta problem återstår innan denna teknik kan utnyttjas i rutinbehandling.

Kartläggning av mikroorganismers arvs massor har på samma sätt skapat förhoppningar om att förbättrade vacciner och nya typer av antibiotika och andra behandlingsmetoder mot infektioner ska kunna tas fram.

Utveckling av olika biotekniska metoder för produktion och administrering av läkemedel är fortfarande aktuella och viktiga områden. Kraven ökar på kvalitet och kvantitet hos biotekniskt producerade produkter. Det har länge varit problem med att få rätt modifiering av en substans som uttrycks i ett heterologt system och många nya biotekniska produktionssystem är under utveckling. Kraven ökar också på att läkemedel ska administreras så effektivt som möjligt och med så få biverkningar som möjligt. Framstegen inom bl.a. nanoteknologin har inneburit att ett stort antal nya administreringssystem är under utveckling. Nanoteknologin är också av stor betydelse för utvecklingen av nya effektiva system för bioanalys, inkl. den s.k. lab-on-a-chip-teknologin, där flera olika tekniker för analys kan kombineras på en mycket liten yta.

Avsikten med kapitel 2 är att ge en beskrivning av ovan nämnda områden, samt också var forskningen befinner sig idag och vart utvecklingen är på väg. Applikationer inom dessa områden behandlas i de därpå följande kapitlen.

2.1 Kartläggning av arvs massa och funktionsgenomisk forskning ger kunskap om komplexa biologiska system

Britt-Marie Kihlberg

Introduktion

Sedan 1995 då den första hela arvs massan (se faktaruta 1) hos en bakterie blev fullständigt karakteriserad har det skett en snabb utveckling av metoder för storskalig kartläggning av olika organismers arvs massor. I takt med utvecklingen av tekniker för massiv parallell analys av arvsanlagen och dess produkter genereras nu en enorm mängd information om de biologiska komponenterna hos levande organismer. Funktionsgenomik är ett begrepp som omfattar dessa nya forskningsområden (se faktaruta 2) och som har som mål att utreda funktionen för arvsanlagen och dess produkter. Denna kunskap förväntas ge ny och djupare förståelse för bl.a. orsakerna bakom olika sjukdomar och en därpå följande utveckling av nya behandlingsmetoder och läkemedel. Att kunna hantera och utvärdera denna information är nu ett av de mest aktuella forskningsområdena inom det biologiska fältet.

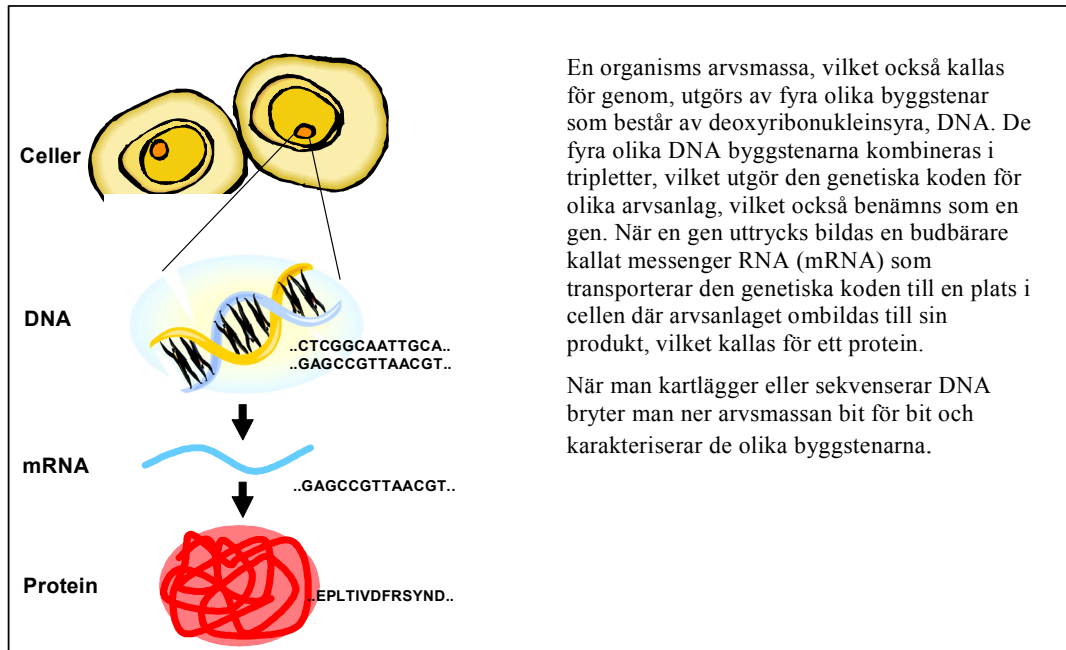
Kartläggning av arvs massor

Att kunna kartlägga en organisms hela arvs massa är ett av de största genombrotten inom det biologiska området sedan upptäckten av DNA-spiralen 1953. Den snabba biotekniska utveckling som skett inom analys av genetiskt material gör att informationen om hela arvs massan hos en bakterie idag kan kartläggas på mindre än ett halvår. Arvs massan för mer än 100 mikroorganismer har kartlagts fullständigt och kartläggning av ytterligare drygt 100 mikrobiella arvs massor pågår. Parallellt med kartläggningen av mikroorganismers arvs massor har också arvs massan hos ett antal högre organismer kartlagts, däribland jäst, mask och fluga. År 2001 presenterades också den första versionen av människans hela uppsättning av arvsanlag. Året därpå, år 2002, färdigställdes också en version av hela arvs massan hos mus. Musen är en av de mest använda djurmodellerna för studier av biologiska skeenden och kartläggningen av musens arvs massa är ett viktigt informationsverktyg för att förstå innehållet i den mänskliga arvs massan. Man uppskattar att antalet arvsanlag i människans arvs massa är runt 40 000, medan exempelvis antalet unika arvsanlag (se vidare nedan) i de mikrobiella arvs massorna som kartlagts hittills, är 2-3 gånger fler. Tillgången till denna enorma mängd information är i de flesta fall allmänt tillgänglig, vilket innebär stora möjligheter att lära mycket mer om biologin hos dessa organismer.

Nya metoder genererar ny kunskap

Genom att jämföra informationen i olika arvs massor kan funktionen hos många av de nya arvsanlagen förutsägas. Analys av informationen i arvs massan hos mikroorganismer har lett till den intressanta upptäckten att funktionen för nära hälften av de identifierade potentiella arvsanlagen är okänd och att runt hälften av dessa arvsanlag är unika för respektive organism och ännu mindre är känt i den mänskliga arvs massan. Den stora utmaningen är därför nu att försöka förstå funktionen för alla dessa arvsanlag. Det återstår mycket traditionellt molekylärbiologiskt och biokemiskt arbete med att karakterisera dessa okända arvsanlag och dess produkter. En genväg till förståelse av funktionen för ett arvsanlag är att utreda hur olika arvsanlag uttrycks i förhållande till varandra under olika förhållanden och hur arvsanlagen och dess produk-

ter interagerar med varandra. För detta krävs att informationen från olika forskningsområden



Faktaruta 1. Arvs massa och arvsanlag

som genomik, proteomik och metabolomik kombineras. Denna forskning kallas populärt för funktionsgenomik (se vidare faktaruta 2 nedan). Forskningen innebär att ny information om arvsanlagen och dess produkter kan erhållas genom att studera hela uppsättningen av gener, proteiner respektive metaboliter vid ett och samma tillfälle. Detta har blivit möjligt i och med att information om alla arvsanlag i hela arvs massan nu finns tillgänglig. Ytterligare en förutsättning för den funktionsgenomiska forskningen är den utveckling som skett av tekniker för global analys av arvsanlag och dess produkter. Dessa metoder är också användbara för identifiering (se vidare kapitel 3.2) och förbättrad diagnostik (se vidare kapitel 5.1). För att till fullo kunna analysera och utvärdera den enorma mängd information som genereras inom funktionsgenomiken pågår nu en parallell utveckling av databaser och datorprogram, populärt kallat bioinformatik. Huvudmålen är att ta reda på funktionen hos de olika arvsanlagen och att identifiera nya mål för läkemedelsutveckling. Ett annat mål är att skapa datormodeller som kan efterlikna komplexa biologiska system och exempelvis prediktera hur olika biologiska system påverkas vid sjukdom och läkemedelsbehandling.

Forskning kring människans arvs massa

Kartläggningen av människans arvs massa, vilket troligen kommer att vara helt färdigställt inom två år, har gett förhoppningar om stora framsteg framför allt inom de medicinska områdena. Man hoppas få en ökad förståelse för olika sjukdomsförlopp, identifiera nya sätt att bota sjukdomar, kunna förutsäga sjukdom och att individuellt kunna anpassa behandling av sjukdom. Kostnaden för att kartlägga arvsanlag har sjunkit drastiskt under de senaste fem åren och även om det fortfarande är dyrt att

kartlägga hela människans arvsanlag är det fullt möjligt att snabbt och rationellt kartlägga skillnader mellan delar av arvsanlaget hos olika individer. Dessa skillnader benämns polymorfism eller nukleotid polymorfism. Om två lika områden skiljer med avseende på

Funktionsgenomik inbegriper olika forskningsområden och tekniker som har sin bas i att hela arvsmassan för en organism nu finns tillgänglig. Syftet med funktionsgenomiken är att med informationen i arvsmassan som bas försöka utreda funktionen och verkningsmekanismer för olika arvsanlag och dess produkter. Med hjälp av teknikerna som beskrivs nedan inom områdena genomik och proteomik kan man dessutom utreda hur olika arvsanlag interagerar med varandra.

Genomik innebär studier av ögonblicksbilder av genernas aktivitet. Genom att stycka upp arvsanlaget och separera upp det på en matris får man en mall där man kan avläsa vilka arvsanlag som är aktiva genom att isolera budbärarna (mRNA) från arvsanlaget och låta dessa interagera med DNA-mikromatrisen. På detta sätt kan det totala genuttrycket (transkriptomet) studeras vid ett visst tillfälle.

Proteomik innebär studier av produkterna från arvsmassan. Studier av proteinerna ger information om vad som hänt under ett längre tidsperspektiv eftersom proteiner är mer långlivade än mRNA-budbärarna. Proteiner är de huvudsakliga komponenterna som katalyserar biologiska funktioner och till skillnad från transkriptomet indikerar proteomet de aktuella händelserna istället för vad som potentiellt kan hända.

Metabolomik innebär utnyttjande av tekniker där man följer hur flertalet lösliga substanser i kroppen, t.ex. i blod eller i ett specifikt organ eller en specifik cell, förändras.

Bioinformatik innebär att man med hjälp av olika datorprogram och olika databaser (gen, genom, protein, struktur, funktion etc.) kan extrahera information om olika gener och proteiner.

Faktaruta 2

individuella nukleotider (DNA-byggstenar) talar man om ”single nucleotide polymorphism”, s.k. SNP. Arvsanlaget hos människa är relativt stabilt och SNP's har därför visat sig vara lättidentifierade markörer för olika egenskaper. Genom att studera SNP's är det möjligt att snabbare utreda hur olika egenskaper är kopplade till varandra och på så sätt få en bild av exempelvis hur olika ärftliga sjukdomar utvecklas.

Många läkemedel som används idag ger olika typer av biverkningar, vilka kan variera hos olika individer. Med hjälp av informationen i arvsmassan hoppas man i framtiden få en ökad förståelse för anledningen till individuella skillnader i biverkningar liksom i mottaglighet för olika sjukdomar. Därmed finns också möjligheten att studera om det är möjligt att individuellt anpassa behandling av olika sjukdomar och kanske också förebygga utbrott av sjukdom (se vidare kapitel 5.2). Förhoppningen är att det ska bli lättare att diagnostisera olika sjukdomar och även förutsäga benägenhet för vissa sjukdomar (se vidare kapitel 5.1).

Forskning kring mikroorganismers arvsmassor

Trots att många sjukdomar orsakade av bakterier idag kan botas är kunskapen relativt liten om hur bakterier fungerar och förändras. Forskning kring en av de minsta bakterierna, *Mycoplasma genitalium*, med totalt enbart 517 olika arvsanlag har visat att enbart 300 av dessa arvsanlag är nödvändiga för att bakterien ska överleva. Forskarna planerar att skapa en helt ny bakterie genom att på konstgjord väg tillverka en arvs-massa. På detta sätt hoppas man få en ökad förståelse för vad som är det basala kravet för att en organism fungerar. Denna forskning kan potentiellt också resultera i utveckling av nya organismer som kan tillverka eller bryta ned önskade produkter. Att mer

kunskap om bakterier behövs visar också den snabba utveckling av antibiotika-resistens som har skett under en förhållandevis kort period.

Flertalet av de mikrobiella arvsanlag som kartlagts är från virulenta (sjukdomsframkallande) bakterier. Inom en snar framtid kommer också arvsanlagen hos flera potentiella B-stridsmedel att vara kända, men man har också påbörjat kartläggning av arvsanlagen hos både mindre sjukdomsframkallande och ofarliga bakterier. Genom att exempelvis kartlägga arvsanlagen hos nära besläktade bakteriearter som infekterar olika vävnader och som också kan vara olika benägna att orsaka sjukdom, kan man få mer kunskap om vilka sjukdomsframkallande faktorer som finns och vilka egenskaper som kan vara vävnadsspecifika virulensfaktorer. Ett intressant exempel är jämförelsen av arvsanlag mellan pestbakterien (*Yersinia pestis*), som ingår i gruppen potentiella biologiska stridsmedel, och en med denna nära besläktad bakterie som orsakar en mildare mag-tarm-sjukdom. Trots att ett flertal sjukdomsframkallande faktorer tidigare har identifierats har man inte helt kunnat förklara skillnaden i sjukdomsbild mellan dessa olika arter. Förhoppningen är att en jämförelse mellan de olika arternas arvsanlag ska leda till en ökad förståelse för den skillnad som ses i sjukdomsbild, men också en förståelse för hur den farligare varianten har uppstått. Kunskap om arvsanlagen hos bakterier har betydelse både för möjligheten att ta fram nya antibakteriella medel, vilket behandlas vidare i kapitel 5.3, och för utveckling av förbättrade vacciner, vilket behandlas vidare i kapitel 4.1.

Kartläggning av arvsanlag har också lett till att framsteg görs inom utvecklingen av nya anti-virala medel och vacciner mot virussjukdomar. Virus är en heterogen grupp av organismer, där exempelvis ett fruktat potentiellt biologiskt stridsmedel, smittkoppsviruset, är ett av de mest komplexa virusen. Genom att informationen om arvsmassan för smittkoppsviruset nu finns tillgänglig kan detta jämföras med närbesläktade virus som fortfarande förekommer naturligt. Detta kan leda till kunskap om hur smittkoppsviruset kunde utvecklas och om en liknande utveckling kan upprepas från idag naturligt förekommande likartade virus.

Försök att skapa konstgjorda virus har också gjorts och nyligen visades att detta är fullt möjligt. Forskare i New York lyckades sommaren 2002 tillverka ett poliovirus med en helt konstgjord arvs massa.

Forskning kring växternas arvs massor

Genetisk forskning är också viktig för utvecklingen av bioteknologisk produktion av förbättrad föda. Arvsanlagen hos bl.a. ris och ett träds lag har kartlagts. Detta leder till att man snabbare kan få en förståelse för hur olika egenskaper, som tålighet mot kyla, uttorkning och motståndskraft mot skadeinsekter, är kopplade till egenskaper i arvsanlaget. Detta i sin tur kan leda till utveckling av bättre växter som är tåligare och näringsrikare. I takt med att man börjar förstå vilka näringsämnen som är nyttiga respektive skadliga för oss kan denna kunskap i kombination med kunskapen om växterna utnyttjas för att producera näringsriktigare föda, s.k. funktionell föda (se vidare i kapitel 4.2).

2.2 Stamceller

Leif Carlsson

Introduktion

Stora förhoppningar ställs idag till utnyttjandet av stamceller för att bota sjukdomar eller reparera skador, speciellt vid sjukdomar eller skador där det idag inte finns någon bra behandlingsmetod. Exempel på ett sådant område är traumatiska nervskador, vilket behandlas i kapitel 5.7. Den enda kliniskt fungerande stamcellsterapi som används i rutinbehandling är benmärgstransplantation, vilket egentligen är en stamcellstransplantation. Just benmärgs- och blodstamcellstransplantation är troligen också den terapi som är den mest relevanta för totalförsvaret.

Bakgrund

En stamcell är en cell som efter celldelning kan ge upphov både till en ny stamcell, s.k. självgenerering och mogna funktionella celler, s.k. differentiering. Ett illustrativt exempel är blodstamceller som under en individs livslängd genererar nya blodstamceller (självgenerering) och bildar alla blodceller såsom röda och vita blodkroppar (differentiering). Stamceller kan grovt indelas i två huvudtyper, stamceller av embryonalt ursprung och vuxna stamceller. De vuxna stamcellerna har oftast en viktig funktion i kroppen eftersom de upprätthåller rätt antal celler och typer av celler i ett specifikt organ (blod, hud, tarm o.s.v.), de brukar därför också kallas organspecifika stamceller. Stamceller av tidigt embryonalt ursprung har å andra sidan ingen uppenbar (stamcells-)funktion i ett embryo eftersom de inte verkar bibehållas (dvs. självgenereras) under embryoutvecklingen, utan blir stamceller först när de har tagits ut ur embryot och odlats i cellkulturer på laboratoriet.

Stamceller av embryonalt ursprung delas in i tre olika typer även om de är relativt likvärdiga vad gäller förmåga att bilda olika typer av celler/vävnader. Denna indelning är mer baserad på vilken typ av embryonala celler man startar med samt hur man går tillväga för att etablera dem: embryonala stamceller, embryonala könsceller samt embryonala carcinomceller. Avsnittet behandlar de förstnämnda. Embryonala stamceller kan etablerats från ett embryos utvecklingsstadium som i mus/råtta infaller 4-5 dagar efter befruktningen och i människa 5-6 dagar efter befruktningen. Embryonala stamceller har etablerats från musembryon sedan tidigt 1980-tal och från människa från slutet av 1990-talet. Dessa celler har en unik förmåga att i cellkulturer bilda olika typer av vävnad såsom blodceller, hjärtceller och nervceller och har studerats relativt väl i möss. Efter rapporten om att embryonala stamceller kan etableras från människa, har man satt ett stort hopp till att det skulle kunna gå att generera olika vävnader eller organ i cellkultur och behandla de sjukdomar där nya friska celler behövs, t.ex. diabetes, Parkinsons, Alzheimer, MS (multiple skleros) och blodbrist.

Ett relativt nytt område inom stamcellsforskningen behandlar s.k. stamcellsplasticitet och dess relevans för att kunna utveckla kliniska applikationer. Detta är en term som man uteslutande använder för de vuxna vävnadsspecifika stamcellerna. Vi vet att embryonala stamceller kan bilda olika vävnadstyper medan vävnadsspecifika stamcellerna bildar nästan uteslutande de celltyper som normalt finns i denna vävnad. Om vävnadsspecifika stamceller skulle kunna bilda celler av en annan vävnadstyp (t.ex. blodstamcell gör muskelceller eller leverceller), talar man om stamcellsplasticitet. Det

har kommit en del rapporter de senaste 3-5 åren som skulle tyda på att vuxna stamceller har en viss plasticitet. Ännu så länge så har det visat sig att denna process är mycket ineffektiv och i vissa fall t.o.m. svår att reproducera. Så även om stamcellspasticitet kan ske så är det fortfarande svårt att säga om det sker normalt, i vilken utsträckning och om denna process är tillräckligt effektiv och reproducerbar för att komma till någon klinisk nytta.

Kliniska tillämpningar idag

Idag finns det bara en enda stamcellsterapi som är en rutinbehandling och det är benmärgstransplantation. Det är egentligen en stamcellstransplantation eftersom det är blodstamcellerna som transplanteras vid denna behandling och som botar patienten. Benmärgstransplantation används idag rutinmässigt för att behandla patienter som har bl.a. leukemi, vissa blodbristsjukdomar samt en del cancerformer som inte är leukemier (t.ex. sarkom). Vid blodbristsjukdomar utgör benmärgstransplantationen själva behandlingen, medan den vid olika cancerformer och leukemier fungerar som "återstart", då behandlingen av canceren får den földeffekten att blodsystemet slås ut. Det finns idag metoder för att få blodstamcellerna att läcka ut i blodbanan och man kan därmed samla in blodstamceller från perifert blod vilket är mycket enklare, effektivare och mindre obehagligt för patienten än transplantation från benmärg. En annan källa för blodstamceller som har blivit accepterad vid benmärgstransplantation är navelsträngsblod från nyfödda barn. Antalet stamceller i varje enskilt prov är dock begränsat. Därför används idag navelsträngsblod nästan uteslutande för att transplantera till barn där färre antal blodstamceller behövs än för en vuxen individ för att transplantationen ska lyckas. Detta betyder att innan navelsträngsblod rutinmässigt kan användas som källa måste man komma på metoder att öka antalet blodstamceller i cellkultur.

Aktuella forskningsområden

Etablering av embryonala stamceller från människa har skapat en mycket stor förhoppning till att man ska kunna göra i stort sett vilket vävnad/organ som helst i cellkulturer och sedan transplantera in dessa celler i patienter. Den största utmaningen idag är att lära sig förstå den process som styr bildningen av olika organ under fosterperioden. Därför går mycket av den nuvarande forskningen ut på att i första hand lära sig att i cellkultur styra embryonala stamceller till olika typer av vävnader och att undersöka om dessa vävnader går att transplantera. Hittills har forskningen gjorts nästan uteslutande i olika djurmodeller med stamceller från möss.

De celltyper som hittills har genererats i cellkultur från embryonala stamceller från möss är vita och röda blodkroppar och även blodstamceller. Andra celltyper som genererats är muskelceller, blodkärl, hud-, lever- och nervceller samt nervstödjevävnad och insulinproducerande betaceller. Alla dessa celltyper är teoretiskt användbara för behandling av blodbrist och leukemier (blodstamceller), Parkinsons och Alzheimer (nervceller), MS (nervstödjevävnad), leverskador, olika hudskador såsom brännskador samt olika degenerativa muskelsjukdomar. Någon fungerande och rutinmässig stamcellsterapi för exempelvis Parkinson, Alzheimer och diabetes existerar ännu inte.

En del av de celltyper som genererats från embryonala stamceller i cellkultur har även testats för dess förmåga att fungera efter transplantation in i djurmodeller. Hjärtmuskelceller har transplanterats in i hjärtat på en vuxen individ med ett hjärtfel och de transplanterade hjärtmusklerna inkorporerades i mottagarens hjärta och kunde till viss

del korrigera hjärtelet. Nervstödjevävnad har genererats och transplanterats in i en djurmodell där denna vävnad är defekt varvid en lindring av sjukdomsförloppet noterats. Nyligen har de specifika nervceller som förstörs vid Parkinsons kunnat genereras och dessa nervceller har efter transplantation i en djurmodell för Parkinson gett en förbättring av symptomen i dessa djur. Man har även transplanterat nervceller direkt in i hjärnan på musfoster och sett att de transplanterade cellerna följer med i den normala hjärnutvecklingen.

Embryonala stamceller från människa har inte funnits tillgängliga lika länge som stamceller från möss så här har inte utvecklingen gått lika långt. Men de vävnader som man hittills har genererat är vita och röda blodkroppar, hjärtmuskel- och nervceller samt nervstödjevävnad.

Forskning och tillämpningar i framtiden

Även om användandet av embryonala stamceller från människa ligger i sin linda så är de försök som hittills gjorts med embryonala stamceller från mus mycket uppmuntrande för framtida användning av denna teknik. Den största utmaningen är att kunna styra utvecklingen av specifika organ och vävnader. För att uppnå detta krävs en ökad kunskap om vad som styr bildning och expansion av organ under fosterutvecklingen. Detta kräver att man parallellt med embryonala stamceller även studerar normal fosterutveckling eftersom dessa fält är intimt sammankopplade. Det finns ingen anledning att tro att det som har fungerat för embryonala stamceller från mus inte skulle fungera för de från människa, men alla kliniska behandlingar som innefattar levande celler har visat sig vara komplicerade att utföra och har tagit lång tid att utvärdera. Det är därför mycket svårt att sja om framtiden. Men med tanke på de framsteg som har gjorts under de senaste decennierna, så borde man inom 10-20 år ha utfört lyckade transplantationsförsök med vävnad från embryonala stamceller i primater (apor, människor) – om inte detta lyckats, så torde det aldrig kunna bli en klinisk rutinbehandling på samma sätt som benmärgstransplantation är idag.

Med en redan idag stor efterfrågan på organ/celler för att kunna behandla/bota svåra sjukdomar där dagens behandling ofta även leder till svåra biverkningar så kommer detta att leda till att vi måste utveckla mera avancerade behandlingsmetoder såsom stamcellsterapier. För att kunna göra detta fordras mera grundforskning parallellt med den tillämpade forskningen. För att detta ska ske så effektivt som möjligt måste så många forskare som möjligt få tillgång till embryonala stamceller från människa. Ett stort hinder för en god utveckling här är rent politiskt eftersom det mest framgångsrika landet i världen (USA) vad gäller forskning till stor del har förbjudit denna typ av forskning. Så mest troligt beror alla framtidsförutsägelser på vad den politiska makten i USA har för inställning till denna forskning.

Av all stamcellsterapi är nog primärt benmärgs- och blodstamcellstransplantation den mest relevanta för totalförsvaret. Vid radioaktiv exponering slås blodbildningen ut och över en viss dos leder detta till döden. Det är därför primärt blodbildningen man måste göra någonting åt hos den exponerade. En annan följsjukdom som man sett vid lägre dos av radioaktiv exponering är leukemi. Som tidigare påpekats används även benmärgstransplantation vid den behandlingsprocedur som leukemipatienter går igenom. En inte alltför orimlig förutsägelse är att vid radioaktiv exponering, t.ex. vid en kärnkraftsolycka eller användning av kärnvapen inklusive ”smutsiga bomber”, kommer det att bli en stor efterfrågan på blodstamceller.

2.3 Genterapi

Ann Göransson Nyberg

Introduktion

Stora förhoppningar har också ställts till genterapin som en alternativ metod till stamcellsterapin. Genterapi är ett sätt att skraddarsy celler så att de får önskade egenskaper. Exempelvis finns förhoppningar om förbättrad terapi vid sårskador genom behandling med celler som genetiskt modifierats att uttrycka tillväxtfaktorer som ett alternativ till den idag dåligt fungerade direkta tillförseln av tillväxtfaktorer (se kapitel 5.6). Genterapi har också använts för lyckad behandling av olika åkommor. Dock återstår en del svårlösta problem innan genterapi kan utnyttjas kliniskt. Ett sådant problem är att det idag inte går att garantera att genterapin inte resulterar i utveckling av en cancersjukdom.

Bakgrund

För ett antal sjukdomar har den bakomliggande orsaken identifierats till att vara defekter i arvsmassan och i vissa fall defekter i en specifik gen. Genterapi är en behandlingsmetod där försök pågår att bota bl.a. den här typen av sjukdomar genom att föra in nya bitar av arvs massa för att reparera, byta ut eller tillföra nya arvsanlag. Exempel på sjukdomar där stora förhoppningar nu ställs till genterapin är olika ärftliga sjukdomar, cancer och infektionssjukdomar som påverkar vår arvs massa, områden där läkarvetenskapen idag ofta saknar effektiva verktyg. Även för behandling av olika kroppsskador ställs förhoppningar till genterapin (se kapitel 5.5, 5.6 och 5.7).

Genterapi kan riktas mot kroppsceller eller könsceller (ägg och spermier). Vid genterapi på kroppsceller ändras mottagarens genetiska uppsättning, men förändringen överförs inte till nästa generations celler. Vid genterapi på könsceller, ändras förälderns ägg- och spermiecell med förhoppning att överföra förändringen till avkomman. Genterapi på könsceller görs idag inte aktivt på större djur eller människor, däremot sker en livlig diskussion i fråga om etik och moral rörande detta.

Tekniken och dess möjligheter

Eftersom symtomen vid många ärftliga sjukdomar beror på att kroppen saknar eller har en skadad kopia av ritningen för ett visst protein kan man tänka sig möjligheten att reparera skadan för att på så sätt korrigera defekten. En annan möjlighet är att tillföra en extra kopia av arvsanlaget, vilket är den tillämpning av genterapi som är vanligast idag. Hittills har sådana överföringar bara gjorts på kroppsceller och förändringen kan alltså inte gå i arv. I båda fallen hamnar den nya biten arvs massa inne i en kromosom. Det innebär att den kommer att kopieras när cellen delar sig och att effekten därmed skulle kunna bli varaktig. Ett annat alternativ, som är aktuellt om man vill ha en kortvarig effekt, är att den extra biten arvs massa inte integreras i en kromosom.

Genterapi är inte bara aktuellt för ärftliga sjukdomar. Av försöken hittills handlar bara ungefär 15 % om ärftliga sjukdomar där symtomen beror på att en enda gen är skadad. Ett annat område är tumörsjukdomar, där omvandlingen från en normal cell till en tumörcell beror på att flera på varandra följande förändringar i arvs massan leder till att celler förlorar kontrollen över celledelning och tillväxt. Över hälften av patient-

försöken rör behandling av cancersjukdomar. Även vissa infektionssjukdomar klassas i grunden som genetiska. Ett exempel är att HIV-viruset för över sin egen arvs massa till den infekterade cellen, som sedan styr den att uppträda på ett visst sätt. Första steget mot en alternativ behandling av HIV-infektioner innebär att man med hjälp av genterapi försöker skydda HIV-virusets målceller från infektion. Eftersom dessa målceller styr kroppens immunreaktioner är tanken att man genom de genförändrade cellerna ska kunna återuppbygga immuniteten mot de sjukdomar som drabbar HIV-infekterade personer.

Genterapi är även aktuell för sjukdomar som beror på både arv och miljö. Försök har nyligen gjorts med behandling av hjärt- och kärlsjukdomar. Hjärtats pacemakerceller startar hjärtslagen, bibehåller cirkulationen och bestämmer med vilken hastighet och rytm hjärtat ska dra ihop sig. Om dessa celler skadas genom sjukdom kollapsar cirkulationen, en situation som för närvarande kräver implantation av en elektronisk pacemaker. Nu har den första rapporten om en biologisk pacemaker publicerats. Med hjälp av en virusbärare överförs arvsanlag till de vanliga hjärtmuskelcellerna, varvid de kan omvandlas till "pacemakerceller". Med denna metod har forskare på Johns Hopkins-universitetet i Baltimore, USA, på marsvin lyckats få delar av hjärtat att sätta igång de impulser som styr hjärtslagen.

Genterapi har även använts i kombination med syntetiskt tillverkade blodkärl. Dessa konstgjorda blodkärl är aktuella att testa på människor vid kärloperationer av patienter med förträngningar som hindrar blodflödet. Att använda sig av syntetiska material skapar nya problem. De främmande materialen kan ge upphov till inflammationer och orsaka blodproppar. För att lösa detta problem tar man hjälp av genterapi och klär insidan av dessa konstgjorda kärl med samma slags celler som de naturliga, s.k. endotelceller. Man tillför gener i form av korta DNA-fragment tillsammans med implantaten. Generna sätter igång produktionen av tillväxtfaktorer som får rätt sorts celler att växa in i blodkärlen. Forskningsföretaget, Xenerates, i Uppsala har som mål att gå ut med denna produkt på marknaden under 2005.

Aktuella forskningsområden

Trots att många framgångsrika försök har utförts kvarstår en hel del problem innan genterapi kan bli en etablerad behandlingsmetod. En av utmaningarna är att hitta effektiva verktyg för att leverera arvsanlag till cellerna. Den vanligaste metoden för att överföra arvsanlag är att använda virus som bärare (vektor) av arvs massa. Det finns även en rad icke-biologiska metoder att överföra arvs massa, t.ex. med elektricitet för att göra cellmembranet genomsläppligt, genom att injicera arvs massan direkt i celler eller genom att använda ett revolverliknande instrument som skjuter arvs massan in i cellen (s.k. gene gun). Valet av metod beror på hur mycket arvs massa som ska överföras. Andra faktorer som påverkar valet är om metoden leder till att arvs massan integreras i kromosomerna och om genöverföring ska ske direkt i en individ eller utanför kroppen.

Virus används p.g.a. dess förmåga att inkapsla och leverera arvsanlag till olika typer av celler. Främst används virus som innehåller ribonukleinsyra (RNA), vilket omvandlas till DNA i värdcellen. Försök har gjorts för att utnyttja detta genom att manipulera virusets arvs massa. På så sätt har virusets sjukdomsframkallande arvsanlag tagits bort och ersatts med terapeutiska arvsanlag. Trots att virus fungerar som ett effektivt verktyg för att introducera genetiskt material till en cell är det inte helt utan risker. Andra problem i kroppen kan uppstå, som toxicitet, immunsvar och

inflammatoriskt svar, samt problem att kontrollera generna och deras mål. Viruset kan oavsiktligt påverka könsceller och på så sätt föra över ändringar till nästa generation. Den nya genen kan sättas in på fel ställe i DNA eller överförda gener kan bli över-representerade så att proteiner blir överproducerade och finns i skadliga koncentrationer. Faktaruta 3 ger exempel på genterapi och dess komplikationer.

"Bubble babies"

Ett exempel på genterapins för- och nackdelar är behandling av barn med SCID (Severe combined immunodeficiency disorder). Det är en medfödd sjukdom som innebär att immunförsvaret inte kan skydda individen ens mot den enklaste förkylning. Barn med SCID måste därför isoleras under absolut sterila förhållanden och detta kan åstadkommas genom att barnen vistas i ett sterilt plasttält, därav uttrycket "bubble baby". Utan behandling dör normalt dessa barn före två års ålder.

Normalt sett behandlas SCID med benmärgstransplantationer. Proceduren är lyckosam när det finns en matchande bror eller syster som kan donera benmärg, ibland också när donatorn är en förälder. Det beräknas dock att endast en tredjedel av barn som har sjukdomen kan få passande benmärg donerad. Den nya genterapin erbjuder bättre möjligheter. Läkarna avlägsnar benmärgen, behandlar den med ett virus som transporterar en korrigerad gen till stamcellerna, och återplaceras sen märgen i barnet. De nya immuncellerna tas upp av blodet.

Tyvärr har denna genterapi råkat ut för ett bakslag sedan två behandlade barn drabbats av blodcancer. Nu vet man mer om orsakerna till cancerkomplikationen - men ännu kan inte det friska genmaterialet styras till rätt ställe i arvsmassan.

Forskare vid University of Florida har experimenterat med en ny metod för att få gener att hamna rätt. De har testat en lösning på problemet som går ut på att vektorn laddas med en liten bit järn. Den kan sedan guidas rätt med hjälp av magneter på utsidan av kroppen. Än så länge har man bara testat tekniken i laboratoriemiljö, men förhoppningen är att den ska låta sig användas även i människokroppen (Molecular Therapy).

Faktaruta 3

Det är heller inte lätt att få stabila uttryck från arvsanlagen sedan de väl överförts. Det är också svårt att överföra arvsanlag till ett tillräckligt stort antal målceller. Arvsanlaget infogas där det hamnar, i vilken punkt som helst och i vilken kromosom som helst. Det finns bl.a. risk att man inaktiverar ett arvsanlag som undertrycker cancer eller aktiverar ett arvsanlag som är associerat med cancer. Och processen skulle inte vara reversibel. En lång rad vetenskapliga problem måste följaktligen lösas innan genterapi kan bli en etablerad metod.

Försök har genomförts för att ta fram en 47e (artificiell mänsklig) kromosom. Denna skulle verka självständigt vid sidan av de 46 standardkromosomerna utan att påverka deras funktion eller orsaka några mutationer. En sådan konstruktion skulle utgöra en vektor med kapacitet att bära stora mängder genetiska koder. Kroppens immunsystem skulle p.g.a. sin konstruktion och anatomi inte attackera kromosomen och orsaka de negativa svar som virus kan ge.

Framtida utveckling inom genterapiområdet

Inom den framtida utvecklingen kommer nya vektorer eller andra metoder för att leverera arvs massa att behöva utvecklas som på ett effektivare sätt kan överföra arvsanlag. Utveckling går mot att ta fram mer selektiva vektorer genom att flera arvsanlag sätts ihop, där det funktionella arvsanlaget kompletteras med reglerande faktorer. Tack vare selektionsmarkörer kan det också bli möjligt att rikta dem till den önskade celltypen. Dessutom kommer det troligen att utvecklas helt nya sätt att föra in gener i

celler. Målet är att kunna skära ut det sjuka arvsanlaget och ersätta det med ett friskt arvsanlag. Möjligheten att klippa in de önskvärda arvsanlagen kan bli speciellt viktigt vid cancer, där man vet att orsaken kan ligga i att ett arvsanlag med en reglerande funktion är skadad.

En annan framtida möjlighet är att kunna koppla samman genterapi med xeno-transplantation, dvs. att använda organ från djur för att behandla människor. För att förhindra avstötning pågår försök med att humanisera djurorgan med hjälp av arvsanlag från människa så att djurorgan kan användas istället för människoorgan.

För optimalt utnyttjande av genterapi måste det finnas en samverkan mellan utveckling av genterapi och gendiagnostik, som exempelvis farmakogenomik (se kapitel 5.2), för att göra det möjligt att identifiera de patienter som är i mest behov av behandling och där bästa effekten av behandling kan uppnås. Genterapi måste dock fortfarande ses som en experimentell metod och det finns ännu inte något behandlingsområde där man kan se det som ett förstahandsval.

2.4 Produktionssystem för läkemedel, vacciner och funktionell föda

Anna Holmström

Introduktion

Inom fyra år efter introduktionen av rekombinant DNA-teknologi användes genetiskt modifierade bakterier för att producera mänskligt insulin samt tillväxthormoner. Detta utgjorde grunden till den s.k. heterologa proteinexpressionen (produktion av främmande proteiner i olika system). Exempel på användningsområden för rekombinanta proteiner är olika typer av läkemedel och vacciner. Trots att bakterier är lätta att odla och stora proteinmängder kan framställas krävs det, för att vissa proteiner ska vara funktionella och syntetiseras på rätt sätt, att de produceras i eukaryota celler. Det är ett av skälen till att virus börjat användas som expressionsvektorer för produktion av rekombinanta proteiner i olika eukaryota celler t.ex. insekts- och mammalieceller. Även vissa svampar och jästceller utnyttjas för produktion av proteiner. För att på ett kostnadseffektivt sätt kunna framställa stora mängder protein har en ny industri bildats där rekombinanta proteiner även produceras i växter och djur, s.k. transgena² organismer.

Bakterier

Fördelarna med att använda bakterier är deras enkla uppbyggnad, korta generationstid samt möjligheten till bra proteinuttryck till låga kostnader. Nackdelen är att de rekombinanta proteinerna inte alltid veckar sig naturligt och därför kan klumpa ihop sig och bilda olösliga aggregat, s.k. inklusionskroppar. Proteiner renade från bakteriesystem saknar därför ofta biologisk aktivitet. Ett annat allvarligt problem är att bakterier saknar många enzymer som finns i eukaryota celler och vars uppgift är att modifiera proteiner bl.a. med sockermolekyler vilket ofta krävs för att proteinerna ska bli funktionella. En alternativ men komplicerad lösning är att uttrycka de modifierande enzymerna i bakterier.

² innehåller artfrämmande arvs massa

Jäst och svampar

Jästceller påminner om mammalieceller på många sätt och kan odlas nästan lika snabbt och enkelt som bakterier. Andra fördelar är att de utför flera av de modifieringar som är funktionellt viktiga för människans proteiner samt att de också kan påverkas till att utsöndra proteiner.

Filamentösa svampar är utmärkta producenter av främmande proteiner. Dessa svampar kan syntetisera och utsöndra stora mängder proteiner som ofta har fler funktionella modifieringar än de proteiner som produceras i bakterier eller i jäst. Stabilt producerande svampar kan konstrueras och flera produktionsprocesser är godkända ur livsmedelssynpunkt.

Insektsceller

Det har visat sig att virus av typen baculovirus kan förändras till att fungera som vektorer (bärare) och de kan användas för uttryck av artfrämmande proteiner i insektsceller. Systemet baculovirus-insektcell har utvecklats vidare och ger ofta stora mängder protein med korrekt veckning och modifiering. Genom att samtidigt uttrycka olika enzymer har man effektiviserat utsöndring, processning och modifiering av de rekombinanta proteinerna. Det är dyrare att producera proteiner i insektsceller än i bakterier, men billigare än i mammalieceller eftersom expressionsnivåerna är så höga.

Mammalieceller

På senare tid har baculovirus modifierats ytterligare så att man kan få tillfälligt proteinuttryck i mammalieceller (främst från lever). Fördelarna med att använda baculovirus för att leverera gener till mammalieceller är bl.a. att de är lätta att manipulera och producera, att de har bred cellspecifitet och att flera arvsanlag kan levereras samtidigt.

Växter och djur

Man har funnit att enorma mängder proteiner (kilogram) kan produceras till låg kostnad i transgena växter och djur, som då utgör levande bioreaktorer i s.k. ”molecular farming”.

Det är mer ekonomiskt att producera proteiner i växter än i bakterier/celler där industriella fermentatorer och bioreaktorer krävs. Dessutom finns redan teknologin för skördning och processning av växter och växtprodukter i stor skala. I vissa fall kan reningssteget elimineras om man direkt kan äta växten som producerat det rekombinanta proteinet (ätbara vacciner har stor potential, se avsnittet Vacciner i kapitel 4.1). Växter kan även styra depositionen av proteiner till specifika intracellulära nischer där de är mer stabila. Exempelvis kan frö lagras i kylskåpstemperatur utan att förlora i aktivitet. Mängden rekombinant protein som produceras kan nå industriskala och hälsorisen minimeras eftersom växter inte är värdar för människans smittämnen. Man har nyligen lyckats uttrycka rekombinanta proteiner i tropiska växter som cassava och banan, vilket skulle kunna underlätta distribution av orala vacciner i U-länder.

Ett lovande koncept för storskalig produktion av rekombinanta proteiner är utsöndring av proteiner i mjölken hos transgena däggdjur. Trots att proteiner kan uttryckas i många andra vävnader kvarstår mjölk som det bästa alternativet eftersom man lätt kan ta tillvara på stora volymer hos mjölkkor och reningsmetoderna är enkla. Rekombi-

nanta proteiner kan också renas från urin och transgena ägg. De senare har potential att ge stort utbyte med en enkel produktion som är lätt att skala upp.

Prognos för framtiden

Baserat på dagsläget bedöms heterolog proteinexpression i bakterier, svampar och jäst endast ha begränsade utvecklingsmöjligheter när det gäller läkemedel till människor. Däremot fungerar systemen mycket bra för ”enklare” typer av proteiner och kommer därför att utnyttjas i hög grad även i framtiden. Proteinexpression i eukaryota celler med virusvektorer är en bra kandidat för proteiner med korrekt modifiering. Flertalet av dagens produktionsproblem kan vara lösta inom en 15-årsperiod. Utvecklingen av ”molecular farming” kommer att möjliggöra produktion av stora mängder rekombinanta proteiner i djur, men framför allt i växter. Särskilt lovande är produktionen av proteiner i växternas kloroplaster, vilket bedöms ge stort utbyte och sakna risk för korsning med andra grödor. Produktion av rekombinanta proteiner i djur har idag vissa begränsningar. Förutom att djur har lång utvecklingstid leder produktion av transgena djur endast till en låg mängd produktiva födslar. Därefter gäller det att identifiera högproducerande djur för avel. Dessutom finns det risk för virusinfektioner och för kontaminering av rekombinanta proteiner med prioner³. Även om det producerade proteinet har ”rätt” (dvs. människans) aminosyrasekvens sker förändringar som är specifika för värdjuret och det är ovisst om detta kan påverka immunsvaret hos människor som får dessa bioprodukter.

2.5 Administreringssystem för läkemedel

Ann Göransson Nyberg

Introduktion

Ett stort antal nya typer av administreringssystem är under utveckling och några är redan på väg ut på den kommersiella marknaden. Viktiga aspekter är att så mycket av läkemedlet som möjligt kommer intakt till rätt plats i kroppen och vid rätt tid. Målinriktad administrering och kontrollerad frisättning är egenskaper som karakteriserar de s.k. on-off-produkter som nu är under utveckling. Utvecklingen inom olika bioteknikområden, som exempelvis nanoteknologin och genterapin, kommer att ha stor betydelse för utvecklingen av tekniker för läkemedelsadministrering.

Bakgrund

Läkemedel har fram till idag huvudsakligen utgjorts av enkla snabbverkande kemikalier som löser sig när de tas via munnen (piller eller vätska) eller som injiceras. Målet för alla sofistikerade administreringssätt är att kunna bibehålla medicinens egenskaper intakta tills det att den når sin specifika plats för behandling, med minsta risk för biverkningar. Utveckling av system för läkemedelsadministrering innebär att få ett läkemedel till rätt plats i rätt tid och till rimligt pris. Nya system för läkemedelsadministrering har bidragit till stora framsteg vid behandling av ett flertal sjukdomar.

³ Prioner är beteckningen på de förändrade versionerna av naturliga proteiner, prionproteiner, som finns i hjärnvävnad hos människor med Creutzfeldt-Jacobs sjukdom, får med scrapie och kor med galna kosjukan. Dessa sjukdomar är hjärnedbrytande och orsakas av att prioner överför sin felaktiga struktur och funktion till omkringliggande celler och vävnad, där det ansamlas i klumpformiga aggregat.

Genom att innesluta substansen i material som kan kontrollera frisättningen, antingen fysiologiskt eller kemiskt, kan man bestämma när den ska verka och hur länge. För framtiden kan framför allt utvecklingen inom mikro- och nanoteknologin innebära ytterligare framsteg inom detta område (se vidare kapitel 2.6).

Idag finns det fyra nyckelområden för design av läkemedel:

1. *Substansens natur.* Molekylär modifiering av substansen för att få bättre kemisk stabilitet och farmakokinetiska egenskaper. Detta gör det möjligt att skraddarsy läkemedel och ge dem de egenskaper som krävs vad gäller absorption, distribution, metabolism, utsöndring, transport över biologiska barriärer och för att nå det mål som ska behandlas.
2. *Administreringsväg.* Val av administreringsväg för ett läkemedel avgörs av vad som är bäst för patienten (via munnen, lungorna eller huden). Detta tillsammans med en fördjupad kunskap om biologiska barriärer (område 3), möjliggör utveckling av produkter som är både selektiva och målinriktade så väl lokalt som i blodbanan.
3. *Biologiska barriärer.* Det är väsentligt att ha en förståelse för hur substanser passerar genom membran och hur de transporteras runt i kroppen till sina mål för att få en säker administrering. Dagens forskning är inriktad på att åstadkomma ett förbättrat upptag av läkemedel via munnen och ökad tillgång till hjärnan.
4. *System för läkemedelsadministrering.* Systemen kan vara både aktiva och passiva och de kan placeras utanpå kroppen eller inuti som implantat.

Aktuell forskning och utveckling av alternativa administreringssystem

När en farmakologisk substans kapslas in eller kopplas till en polymer⁴ eller liposom förbättras säkerheten och effektiviteten enormt och nya behandlingar är möjliga. Detta har lett till aktiva studier för design av nedbrytbara material och intelligenta administreringssystem.

Via munnen

Oral administrering av små molekyler har hittills varit överlägsen andra administreringssystem för läkemedel. Oral administrering med tabletter är fortfarande den bästa metoden med generellt sett låga kostnader per dos, minimala biverkningar och önskad medicinsk effekt. Den har dock svagheter vilket kräver förbättringar. För det första ger medicin som tas via munnen och frisätts med tiden en kontinuerlig behandling istället för att ta bort tillfälliga symtom och förändringar. Dessutom fordras metoder som på ett säkert sätt kan transportera läkemedlet till den plats i kroppen där det ska verka. Substansen ska exempelvis klara av att passera magsäcken med dess låga pH, där den lätt kan förstöras och den ska kunna transporteras förbi frisk vävnad utan att skada denna. En satsning har varit administrering av små mikrosfärer som kan tas upp av tunntarmens lymfkörtlar. Trots att många olika material har testats som bärare till de aktiva substanserna är upptaget bara 3 %.

Via lungan

Lokal administrering av medicin direkt i lungan har använts i flera år vid lungsjukdomar som astma och cystisk fibros. Lungans alveoler har en mängd förutsättningar för administrering av molekyler till blodet, bl.a. stor upptagningsyta, tunt vävnads-

⁴ Polymer: Syntetiskt eller naturligt, oftast organiskt ämne, som består av kedjeformiga molekyler

skikt till blodet och ett begränsat antal nedbrytande enzymer. De flesta administreringssystem är via inhalatorer, men flera av dessa levererar inte substansen på ett effektivt sätt. Mindre än 10 % av ämnet når i regel lungan och upprepade doser krävs varannan timma.

Nya inhalatorer med förbättrad effektivitet är under utveckling och försök görs för att fint torrt pulver ska kunna administreras som aerosoler till lungorna. Ett aerosolmoln skapas genom att sammanpressa luft in i pulvret som finns i inhalatorn. Pulvret bryts då ner till mycket små partiklar (1-5 µm), vilka är kapabla till att nå djupt ner i lungan. Dessa nya inhalationer levererar cirka 20-50 % av substansen ned i lungan.

I andra försök med aerosolpartiklar används stora porösa partiklar med extremt låg densitet. Genom att sänka partiklarnas täthet förändras dynamiken hos aerosolen, vilket gör det möjligt för mycket större partiklar att nå lungan via luftströmmen samt leder till minskad sammanklumpning. Inhalationseffektiviteten blir högre och risken för att immunsystemet ska aktiveras och förstöra läkemedlet minskar. Dessutom kan frisättningen av läkemedlet ske under en längre tid, t.ex. kvarstår effekten av insulin i fyra dagar från en enda inandad dos vid djurförsök.

Via huden

Administrering av läkemedel genom hud, t.ex. via plåster, kommer att öka p.g.a. låg kostnad, stort patientunderlag och att det är enkelt och praktiskt. Huden agerar effektivt som en ogenomtränglig barriär för de flesta substanser. Trots detta kan små lipofila substanser tränga genom huden med en mycket låg hastighet. Hudplåster har framställts för flera olika mediciner och de räcker 1-7 dagar. Med hjälp av elektrisk stimulering, t.ex. jonofores, har administrering via huden gjorts tillgänglig för fler substanser (ökad transport av små molekyler som t. ex. medicin mot smärta och även större peptider). Det har också visat sig att ultraljud vid låga frekvenser kan öka flödet av stora molekyler, t.ex. insulin, genom huden. Mekanismen för detta ser ut att vara en tillfällig förändring i hudens yttersta fettlager som normalt är det största hindret.

Nålfria injektioner är nu möjliga med ny teknik, s.k. gene gun (se kapitel 2.3). Medicin kan injiceras utan nål i en muskel, under eller i huden, genom att forcera vätska eller pulver med hög hastighet via en hårfin öppning. Teknologin kan användas för att leverera traditionella små molekyler, peptider, proteiner, vaccin eller DNA.

Via slemhinnan

Administreringssystem via slemhinnor kommer att vara intressanta vid medicinska behandlingar som kräver snabb insats, t.ex. vid migrän, muskelinflammation och munsmärta. Exempelvis skulle ett plåster applicerat till munslemhinnan kunna ersätta injicering av bedövningsmedel hos tandläkaren. Denna typ av läkemedelsadministrering befinner sig på ett forskningsstadium.

Morgondagens möjligheter

Det finns ett stort antal helt nya administreringssystem för framtiden. Flera av dessa har fått sina genombrott och är nu på väg ut på den kommersiella marknaden. Långtidsbehandlingar kommer i framtiden mer att baseras på förutsättningarna att de flesta kroppsfunktioner fungerar med på- och avslag (on-and-off) och reagerar olika för olika stressituationer i kroppen. För t.ex. kroniska tillstånd som artrit⁵ eller hjärt- och

⁵ Samlingsnamn för olika inflammatoriska ledsjukdomar

kärlsjukdomar, ökar tron på att medicinen får en bättre effekt om patienten får medicinen vid rätt tid, med högre effektivitet och med färre biverkningar. Flera ”on-and-off” produkter ligger långt framme i utvecklingen och kan förväntas att finnas tillgängliga inom tre till fem år. Exempel på sådana produkter är implantat, pulserande eller intermittent tillförsel och målinriktad administrering (se faktaruta 4). Målinriktad administrering av läkemedel till det skadade området är ett prioriterat område. För att förmedla tillräcklig mängd av en substans till området krävs anpassade bärare. Nano- och mikropartiklar som bärare har en stor potential vid administrering av terapeutiska molekyler. Forskningen innefattar nyupptäckta system som ökar effektiviteten av läkemedelsadministreringen, förbättrar frisättning av den aktiva substansen och ökar förmågan att nå målorganet. Nanoteknologin påverkar också utvecklingen av biosensorer, vilket leder till möjligheten att integrera biosensorer i olika system för kontroll och reglering av läkemedelsadministrering (se faktaruta 5 och vidare om biosensorer i kapitel 3.1).

On-off-produkter

Implantat, som ger medicin för en längre tid. Vissa sådana produkter finns redan på marknaden. De når ett stort område i sin närhet men förhindrar att andra delar av kroppen utsätts för medicinering. Nästa generation implantat kommer sannolikt att inrikta sig på nedtryckning av immunförsvaret för att underlätta för transplantationer och behandling av cancer.

Pulserande eller intermittent tillförsel av medicin kräver ett litet chip som känner av förändringar i kroppens tillstånd och därefter avger en tillräcklig dos. Diabetespatienter kan bli dom första som får förmånen att använda ett sådant system, troligen inom tio år. På liknande sätt kommer administreringsprodukter som kombinerar den feedback som finns i pacemakers med små mekaniska pumpar, att utvecklas för artrit och hjärt- och kärlsjukdomar.

Målinriktad administrering använder antikroppar eller annan teknik för att fokusera sig på ett visst organ, vävnad eller tumör och därefter frisätta en välanpassad tidsinställd medicinering. På detta sätt minskas exponering av läkemedlet på andra icke angripna regioner och ökar effektiviteten. Cancer och artrit är sannolikt de första områden som kommer att nås av denna typ av behandling.

Faktaruta 4

On-off-produkter för kontrollerad läkemedelsfrisättning ligger i forskningsfronten. Dessa system att tillföra aktiva substanser har flera fördelar jämfört med konventionell administrering med avseende på ökad effektivitet, minskad toxicitet samt att de når en större patientgrupp p.g.a. sin lätthanterlighet. Makromolekyler används ofta som bärare till substanserna. På detta sätt är behandlingar som tidigare varit omöjliga att utföra nu möjliga. Av alla olika former av dosering som rapporterats visar sig nanopartiklar och mikropartiklar vara mycket viktiga. De har främst använts som bärare till läkemedel mot inflammation och cancer. Detta beror på att de ansamlas i vävnader med hög genomblödning som t.ex. inflammerad vävnad och tumörer. Faktaruta 5 ger exempel på system för kontrollerad läkemedelsfrisättning.

Förutom nanoteknologi finns fyra andra huvudområden inom forskningen som sannolikt kommer att förstärka nytänkandet inom administrering under de närmaste decennierna. En är forskningen inom farmakogenomik (se vidare kapitel 5.2). Det är möjligt att föreställa sig den dagen när system för läkemedelsadministrering styrs helt av informationen hos en individs arvs massa och kan skräddarsys för alla sjukdomar. Genterapi (se kapitel 2.3) är ett annat område där verkliga produkter troligen finns inom ca tio år. De första lyckade kommersiella produkterna är förutspådda att vara implanterbara cellöar för diabetespatienter. Ett tredje forskningsområde rör kroppens dygnsrytm; i framtiden kommer förståelse för sömnbehov, matvanor och stress-

mönster att bli mer sofistikerad, vilket leder till anpassning och förändring av läkemedels-

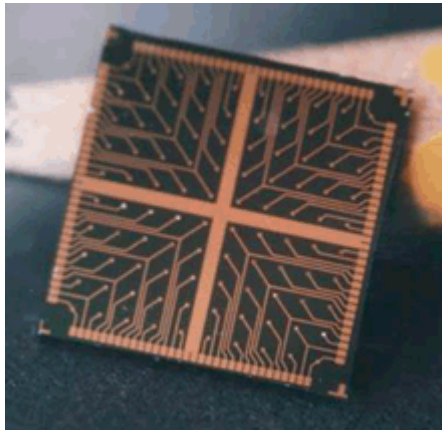
Läkemedelsadministrering vid behandling av diabetes

En sjukdom som är aktuell för behandling med kontrollerad läkemedelsfrisättning är diabetes. Ett optimalt administreringssystem för denna sjukdom skulle vara att insulin frisattes genom att sockernivåer i blodet registreras. Man har forskat inom detta område de senaste tio åren och det finns några få system som visar framgång.

De flesta system som har studerats baserar sin frisättning på att glukos i blodet reagerar med enzymet glukosoxidas, som kan fästas på polymerer som innehåller insulin. Reaktionen leder till att pH sänks i polymerens omgivning, polymeren sväller då och därmed kan insulin läcka ut.

Arbete med bionedbrytbara polymerer har också gett upphov till pH-känsliga material som bryts ned snabbare i en sur miljö. Dessa polymerer utgör kärnan i ett levereringssystem där insulin finns. Allt omges av ett membran som består av glukosoxidas som reagerar med glukos, sänker pH och därmed ökar nedbrytningen utav polymeren så att insulin kan frisättas.

Ett ytterligare system som kan frisätta insulin som svar på glukos är polymerer som krymper istället för att svälla vid låga pH. Detta är en typ av gel som sväller vid höga pH och därmed stänger grindarna för insulin. Vid låga pH krymper gelen och därmed öppnas grindarna. Frisättningen av insulin kan kontrolleras genom att bestämma grindarnas storlek, koncentrationen av insulin och med vilken hastighet grindarna öppnar och stänger sig.



Ett mikrochip för kontrollerad frisättning?

Mikrochips som innehåller reservoarer för substanser i nanostorlek kommer att kunna leverera medicin under långa perioder på ett kontrollerat sätt. Slutmålet är att placera en mikroprocessor, kraftkälla och biosensor i ett och samma chip. Ett implanterbart system som kan administrera medicin och svara på specifika molekyler som har en reglerande förmåga kan en dag bli verklighet.

Bilden visar framsidan av ett mikrochip för kontrollerad frisättning. Rader av 100 guldreservoarers lock och deras närliggande elektroder (som skala ses spetsen av en penna i bakgrunden). Foto av Carita Stubbe med vederbörligt tillstånd av MicroCHIPS, Inc.

Faktaruta 5

administrering. De första möjligheterna för administrering via dygnsrytmen rör sömn och årstidsrelaterade sjukdomar, men konceptet bör också kunna appliceras på produkter för hjärt-kärlsystemet och centrala nervsystemet under de närmaste tio åren. Det fjärde forskningsområdet handlar om att förhindra resistans mot antibiotika. Dagens snabba resistensutveckling tros delvis bero på att antibiotika administreras oralt och därmed påverkar hela vår normala tarmflora. Ett framsteg vore att administrera antibiotika till det specifika målorganet, vid t.ex. en höfttransplantation ges antibiotika direkt till höften i stället för via blodet. Det skulle kunna uppnås genom att t.ex. placera ett administreringssystem som frisätter antibiotika direkt in i protesens eller genom att kapsla in antibiotika i det lim som används vid transplantationen. I framtiden förutspås att vi kommer att ha "läkemedelskort" liknande våra kreditkort, som kan läggas på armen när vi behöver t.ex. insulin eller antibiotika. Mikroskopiska mixers och pumpar som passar på plåster och som kan leverera medicin via en smal nål har utvecklats. Dessa "läkemedelskort" kommer att vara till stor hjälp inom akut-

medicin, helt enkelt som ett okomplicerat sätt att administrera medicinen kontinuerligt och i små doser.

2.6 Nanoteknologi

Torbjörn Tjärnhage

Introduktion

Nanoteknologi är ett forskningsområde under stark expansion, vilket i sin tur påverkar utvecklingen inom en rad olika områden som bioteknik, materialutveckling och informationsteknologi. Inom området bioteknik påverkar nanoteknologin utvecklingen inom bl.a. bioanalys, läkemedelsdistribution, material för nedbrytning av skadliga ämnen, samt lab-on-a-chip-teknologin. Utvecklingen går mot att miniaturisera olika utrustningar för analys och distribution. I kapitel 7 behandlas vidare molekylära elektronik, bioelektronik och biodatorer, vilket innebär utnyttjande av biologiska molekyler för att kunna åstadkomma ytterligare miniaturisering.

Bakgrund

Nanoteknologi/-teknik innebär forskning och teknologikutveckling på atomär, molekylär och makromolekylär nivå. På senare år har det blivit allt mer möjligt att utforma, manipulera och mäta material och strukturer med minst en dimension i storleksordningen 1-100 nanometer. Även något större strukturer framställda med mikrolitografi i kisel (chip-teknologi) brukar ibland falla in i definitionen. I nanometerskalan närmar sig kemiska, fysiska och biologiska frågeställningar varandra och material och strukturer får nya egenskaper (kvantfenomen). Nanoteknik är för närvarande ett hett område inom forskningsvärlden och den väntas utvecklas mycket inom den närmaste framtiden. I USA har man startat National Nano Initiative (NNI) som har en budget på ca 500 miljoner USD per år under ca fem år. Forskningsråd inom EU satsar också stora pengar inom området (EU's sjätte ramprogram). Även i Sverige förekommer initiativ på satsningar inom området, bl.a. från Vinnova och Forsvarsmakten. Inom universitetsvärlden har olika konsortier och nätverk bildats för att samordna verksamheten avseende nanoteknologi.

Nanoteknologiska områden

Material och system i nanometerstorlek har studerats sedan länge, men tidigare talades inte om nanoteknik utan istället användes begreppen "ultra small" particles, dimensions etc. Det finns i dagsläget enbart ett fåtal kommersiella produkter som baseras på nanoteknologi och de flesta systemen existerar än så länge bara på laboratorier. Det har dock skett en storskalig satsning de senaste åren och inom områdena material och tillverkning, nanoelektronik och datorteknologi samt medicin och hälsa förväntas nanotekniken leda till avsevärda framsteg.

I klassisk materialtillverkning utgår man från ett "bulkmaterial" och formar det till önskad form. Med nanoteknik kan man utgå från små byggstenar med dimensionen 1-100 nm som antingen själv får ordna sig till större strukturer eller så flyttas helt enkelt byggstenarna samman med någon form av manipulator till den önskade strukturen. Detta tillverknings sätt innebär en s.k. "bottom up"-tillverkning av materialet, men det finns dock metoder för att tillverka nanomaterial från större strukturer genom mekanisk påverkan (top-down). Nanomaterial har helt andra egenskaper än motsvarande

makromaterial. Bland annat kan nanomaterial ha betydligt högre hållfasthet och seghet, vilket leder till applikationer som konstruktionsmaterial för olika extrema förhållanden. Exempel på ett sådant material är kol-nanorör som har många unika egenskaper. Material i nanostorlek får också förändrade kemiska egenskaper p.g.a. ett ökat förhållande mellan yta och volym, det kan t.ex. bli mer reaktivt.

I dagsläget tillverkas de mest avancerade mikroprocessorer till datorer med halvledarmönster som är 130 nm. Det ständigt ökande behovet av datorkraft driver på utvecklingen mot allt mindre strukturer. Detta krävs för att mängden komponenter i processorn ska kunna öka. Datorkretsar i nanometerskala förväntas leda till snabbare och effektivare system där beräkningskapaciteten kan mångfaldigas ca 1 miljon gånger. Energiförbrukning och tillverkningskostnad kan också minimeras. Man tror att gränsen för traditionell tillverkning snart är nådd och chip med organiska eller biologiskt liknande molekyler kan komma att bygga upp strukturer i data och minneschip. Detta behandlas mer utförligt i kapitel 7.

Byggstenar som aminosyror, nukleinsyror, lipider och kolhydrater är biologiska komponenter vars egenskaper beror på deras storlek och förmåga att skapa större komplexa strukturer (proteiner, DNA, membraner mm). Att kontrollerat manipulera och avläsa dessa material är, om något, nanoteknologi. Exempel på applikationer är bl.a. snabb och billig analys av en persons genetiska profil vilket kan leda till bättre diagnostik och behandling av sjukdomar. Nanoteknik kan leda till nya typer av mediciner och förbättra sättet att distribuera dessa till avsedd plats. För den grundläggande forskningen om celler kan nya nanometoder göra det möjligt att analysera egenskaper och funktioner direkt i cellen. Vidare kan man få bättre biokompatibilitet på implantat genom att kontrollera strukturen och sammansättningen på en yta. Nanomaterialen kan också användas för att tillverka konstgjorda organ och sinnen, t.ex. konstgjord näthinna av s.k. "kvantprickar" (quantum dots). Sensor- och biosensorsystem kan användas för att övervaka biologiska parametrar hos patienter och på ett tidigt stadium varna för avvikelser (se vidare i kapitel 3.1). Ökad beräknings- och telekommunikationskraft förbättrar möjligheterna för telemedicin och fjärrövervakning.

Nanoteknologin innebär inte bara att man kan tillverka nya material och strukturer i nanometerskala. Avancerade instrument för att studera t.ex. enskilda molekyler och nanometerstora strukturer krävs också. Ett exempel är s.k. skannande probmikroskop, bl.a. atomkraftsmikroskop. I dagslägen används atomkraftsmikroskop för att flytta enskilda atomer på en yta eller för att karaktärisera enskilda proteiner och DNA-strängar.

Biotechnologiska applikationer med nanomaterial

Bioanalys

Halvledarnanokristaller (bioconjugate quantum dots) kan fungera som biologiska fluorescensmarkörer istället för molekylära fluorescensprober. Fördelen med nanokristallerna är att de kan exciteras vid ett större spann av våglängder, vilket gör att man kan använda samma laser till många olika prober. Guldnanopartiklar kan användas för detektion av arvs massa på så vis att man utnyttjar det färgskift som uppkommer när guldnanopartiklarna aggregerar under själva detektionsreaktionen. Proceduren ger en detektionsgräs som är ca 50 ggr lägre än traditionell fluorescensmetod.

Läkemedelsdistribution

Man har även demonstrerat hur guldtäckta nanopartiklar kan användas för att frigöra läkemedel ur en hydrogel av polymerer. De guldtäckta partiklarna absorberar ljus vid en sådan våglängd som lätt passerar biologisk vävnad vid belysning. Det absorberade ljuset omvandlas till värme som gör att polymeren ändrar struktur och frigör infångat läkemedel. På detta sätt frigörs läkemedlet endast inom det område som är belyst. Ett annat sätt att distribuera läkemedel lokalt är att använda magnetiska nanopartiklar med den aktiva substansen fastsatt på ytan. Med hjälp av en extern magnet kan läkemedlet ”placeras” direkt där det behövs.

Nanomaterial för nedbrytning av skadliga ämnen

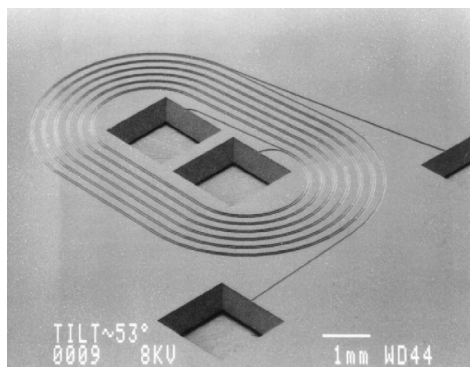
Nanoemulsioner bestående av vatten, sojaolja och detergenter kan användas för att neutralisera ett flertal mikroorganismer. Nanoemulsionen fungerar i detta fall genom att destabilisera mikroorganismens lipidlager.

Nanopartiklar av metalloxider har visat sig ha katalytiska egenskaper som kan användas för katalytisk nedbrytning av giftiga kemikalier.

Lab-on-a-chip

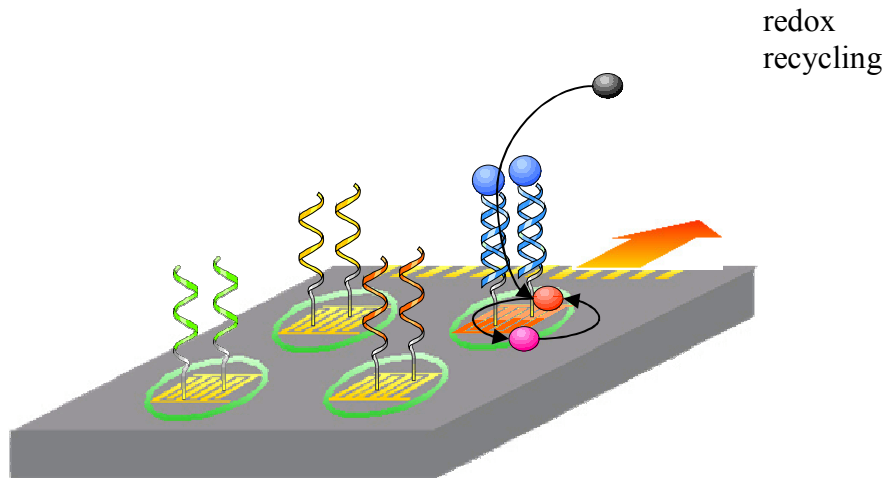
På liknande sätt som man idag tillverkar mikrochip på en kiselplatta kan man tillverka mikroflödessystem med kanaler, separationssteg, reagensbehållare m.m. (se figur 1).

Detta ger möjlighet till att tillverka ett analyschip som innehåller i princip ett helt laboratorium. I dagsläget finns många olika funktioner och komponenter tillverkade med mikrochipteknologi. Exempel är kromatografiska separationssteg, PCR (se kapitel 2.3) i mikroskala, samt olika detektionselement. Det kan t.ex. vara elektriska DNA-sensorer (se figur 2 och 3) eller andra mikroelektromekaniska sensorelement (MEMS). Fördelarna är att man kan tillverka ett billigt analyschip med alla nödvändiga komponenter som ger möjligheter till att analysera många prover parallellt. Även nödvändiga elektroniska komponenter kan naturligtvis finnas på samma chip.

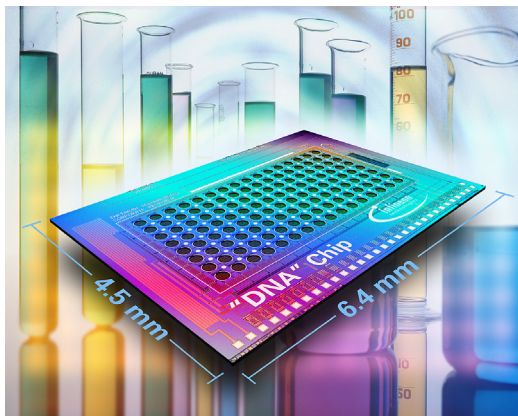


Figur 1. Bild på ett mikroflödessystem med reservoarer och kanaler etsade i en kiselplatta. Linjens längd är 1 mm. Bilden kommer från Central Research Laboratories, CRL i England, med vederbörligt tillstånd, www.crl.co.uk

Det finns också andra principer där man tillverkar mikroflödeskanalerna i plast på liknande sätt som CD-skivor pressas. Fördelarna med en sådan teknik är att analyschipsen går att göra ännu billigare och enklare. De mikrolitografiska tekniker som används för kiselchipsen är något mer komplicerade, men kan i gengäld ge mer avancerade chips.



Figur 2. Principen för hur eBiochip Systems DNA-sensor fungerar: DNA-prober binds in till en mikrolitografiskt tillverkad elektrodstruktur. På de ställen som det sökta DNA-fragmenten binds kopplas ett enzym in som genererar en produkt som är elektroaktiv och kan detekteras med elektroden.
www.ebiochipsystems.com



Figur 3. I ett samarbete mellan Infinion, Siemens, Fraunhoferinstitutet för kiselteknologi (eBiochip Systems), Eppendorf och November AG, planeras ett vidareutvecklat DNA-chip som kommer att fungera som ett ELISA-system med 128 sensorbrunnar. Systemet kommer att ha nödvändig elektronik (elektroder, förstärkare och potentiostater mm) under varje brunn för avläsning av reaktionssvaret.

Bedömningar

Nanoutvecklingen tros komma påverka hela den vetenskapliga utvecklingen och den tvärvetenskapliga naturen inom nanoteknologin (biologi/kemi/fysik/) kommer att leda till ett ökat samarbete mellan de olika disciplinerna. Det leder också till att nya applikationer kan komma att utvecklas i dess gränser. Vi kan t.ex. se hur elektronik och biologi kopplas samman och material med biologiskt kompatibla ytor kan framställas. Nanoteknologiska landvinningar kan leda till applikationer inom biotekniken på ett flertal sätt. Generellt sett förväntas nanoteknik leda till en bättre kunskap om biologiska byggstenar och deras egenskaper. Även utvecklingen av allt snabbare datorer

kan innebära bättre datorsimuleringar och modelleringar av biologiska system, något som bidrar till bl.a. läkemedelsutvecklingen.

Utveckling på 5 års sikt

Inom den närmaste framtiden kan man förvänta sig att det finns mer utvecklade biochip för ett flertal olika applikationer. Det kan t.ex. vara olika DNA-chip för screening, immunoassaychip och proteinchip som kan utföra tusentals analyser parallellt (figur 3). Biochip för detektion av biologiska stridsmedel med PCR och sensorelement på ett chip befinner sig idag på prototypstadiet och kommer troligen också att finnas ute på marknaden inom ca två år. Produkter som innehåller nanoemulsioner och katalytiska nanopartiklar för destruktions av skadliga ämnen kommer också inom en snar framtid att finnas på marknaden.

Utveckling på 10 års sikt

På lite längre sikt förväntas utvecklingen leda till:

- att nanomaterialbaserade sensorer kan användas för att minska feldosering av läkemedel (genom att mäta effekter och sidoeffekter av läkemedlet, samt viss kartläggning av den enskilda individens speciella gener),
- nya verktyg för karakterisering av kemiska och mekaniska egenskaper hos celler, övervakning av egenskaper hos enskilda molekyler,
- mikroskopiska sensorsystem för tidig upptäckt av sjukdomar,
- biokompatibla implantat,
- ökad förståelse inom olika modeller för proteinstrukturering,
- behandling av hjärtsjukdomar och diabetes med bioelektriska system (BioMEMS) i nanoskal,
- bärare av DNA-vacciner.

Utveckling på 15 års sikt

- nanoroboter som kan injiceras i kroppen för att laga skadade celler eller DNA,
- nya verktyg för läkemedelsframtagning,
- biologiskt inspirerade självorganiserade nanosystem (t.ex. DNA som byggstenar till elektroniska kretsar, minnen osv.),
- farmakologiska modeller och vacciner som är baserade på den enskilda individens arvs massa,
- syntetiska molekylära motorer.

3 System för att påvisa, identifiera och mäta substanser och organismer

Ett av de områden som bedömts vara av stor betydelse för totalförsvaret är system för att påvisa förekomst av mikroorganismer och olika substanser som kan påverka människans hälsa. Det finns idag en mängd kommersiella produkter som erbjuder denna möjlighet. Utvecklingen har även strävat mot instrument som i nästa steg kan identifiera den aktuella mikroorganismen för att kunna hantera prover från luft, vatten eller livsmedel samt prover från patienter. Kapitlet beskriver utvecklingen av analytiska metoder som biosensorer för detektion av bl.a. DNA och proteinchip för identifiering. En pågående utveckling inom båda dessa områden är framtagning av stabila substanser för att göra analysinstrumenten hållbarare.

Biosensorer är instrument där biologiskt material, t.ex. enzymer och antikroppar, används för detektion av olika ämnen. Den teknologiska forskningens framsteg har medfört att potentialen för biosensorers användbarhet inom helt skilda områden såsom medicin, livsmedelsindustri och miljöområdet har ökat. Utvecklingen av mikroprocessorer, mikroelektroder och lab-on-a-chip teknologi gör det möjligt att miniaturisera sensorerna. Detta ger också möjlighet att integrera biosensorer i olika typer av system som t.ex. komponenter för kontroll och reglering av läkemedelsdoseringar. I framtiden kan exempelvis miniaturiserade instrument mäta förändringar av ämnen i en individs blod och ge varning vid kritiska nivåer. Sådana biochip kan agera i realtid genom att de placerats i kroppen samt kopplats till distribution av läkemedel. Biochip som bärs på hand- eller fotled kan varna för förekomst av miljöfarliga ämnen eller kanske kemiska stridsmedel. På längre sikt kan miniaturiserade biochip opereras in under huden och där fungera som larmklocka för exponering av skadliga ämnen eller smittämnen.

De genetiskt baserade identifieringsprinciperna, som är mer specifika och känsliga än de immunologiska, utvecklas explosionsartat. Dessa metoder förutsätter kunskap om smittämnens arvs massa som idag snabbt genereras från otaliga genomsekvenseringsprojekt. Även utveckling av proteinchip sker mycket snabbt. Dessa tekniker bygger på att molekyler med bindande egenskaper fästs på en affinitetsyta. Generellt sett går utvecklingen av snabbmetoder mot automatiserade, integrerade, miniaturiserade system, dvs. alla steg från provförbehandling till analys sker on-line, och hundratals prover kan analyseras samtidigt. Detta ger förutsättningar för att utveckla enkel bärbar utrustning för fältmässig identifiering av smittämnen. Chip som kan massproduceras blir i framtiden billiga och energisnåla hjälpmedel för att snabbt identifiera exempelvis biologiska stridsmedel.

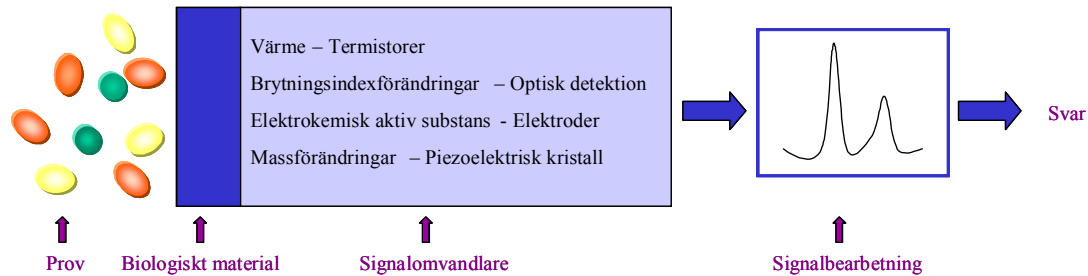
3.1 Biosensorer

Inga Gustafson

Bakgrund

Biosensorer är analytiska instrument där molekyler av biologiskt ursprung som enzymer, antikroppar och receptorer används för detektion av t.ex. kemiska ämnen, bakterier och toxiner. Dessa igenkännande biologiska molekyler kan med hög känslighet och specificitet reagera med det ämne som ska detekteras. Biomolekylerna är integrerade (immobiliserade) med en signalomvandlare som omvandlar den bio-

kemiska reaktionen till en elektronisk signal. Det finns flera olika typer av signalomvandlare. Valet av lämplig signalomvandlare beror på vilken typ av fysikaliska eller kemiska parametrar som är aktuella. Några exempel på mätbara parametrar som reaktionerna kan generera och vilken signalomvandlare som kan användas finns angivna i figur 4.



Figur 4. Principen för en biosensor och de komponenter som ingår. Den kemiska signalen som genereras vid interaktionen mellan prov och biologiskt lager omvandlas till en elektrisk signal i signalomvandlaren, förstärks och bearbetas vidare till ett kvantitativt/kvalitativt svar.

Den biologiska igenkännande komponenten kan grovt indelas i katalytiskt aktiva⁶ eller enbart bindande (affinitetsbaserad). I katalytiskt aktiva sensorer används t.ex. immobiliserade enzymer eller bakterier med katalytisk förmåga. Dessa känner igen och reagerar med det ämne som ska detekteras varvid det genereras någon typ av mätbar produkt. I affinitetsbaserade sensorer binder det ämne som ska detekteras specifikt till den igenkännande molekylerna vilket sedan registreras av signalomvandlaren. Exempel på biologiskt material som kan användas är DNA, RNA, antikroppar, bakterier, celler, hela vävnader och kolhydrater. Det biologiska materialet kan bindas till signalomvandlaren på flera olika sätt. Biosensors känslighet beror till största delen på hur specifik den igenkännande molekylerna är och att den är jämnt distribuerad med rätt orientering till sensorytan.

Forskningen inom biosensorteknologin har pågått länge, den första biosensorn utvecklades av L C Clark under 1950-talet. Utvecklingen stod länge ganska stilla och det är inte förrän under de senaste två decennierna som den har tagit fart igen. Clark lanserade en elektrokemisk biosensor som var enzymbaserad för mätning av glukos. Det är just denna typ av biosensorer som har varit mest kommersiellt framgångsrik med applikationer framför allt inom sjukvården. Det område som nu växer snabbast inom biosensorteknologin är affinitetsbaserade biosensorer. Dessa har stor potential att användas för detektion och kvantitativa mätningar inom diagnostik, livsmedelsindustrier, försvar, polisväsende och i miljön.

Utvecklingen av biosensorer under den senaste 10-årsperioden har visat att det finns en stor potential för att använda dessa som analytiska instrument. Flera har blivit kommersiellt tillgängliga och funnit applikationer inom olika områden, t.ex. kliniska mätningar och detektion av ämnen i vår omgivning. Utvecklingen av optiska biosensorer har även gynnat forskning rörande molekylära interaktioner. Det finns flera optiska biosensorer ute på marknaden som t.ex. Biacore (Biacore, Uppsala, Sverige), IAsys (Affinity Sensors, Cambridge, England) och Nippon (Japan). Med dessa sensorer är det möjligt att följa hur biomolekyler binder in till varandra i realtid utan att använda märkta molekyler. De här instrumenten är relativt dyra och är lämpade att

⁶ Underlättar/påskyndar reaktioner

användas på laboratorier under kontrollerade förhållanden. Önskvärt är att designa biosensorer som kan användas i fält under realistiska förhållanden.

Varje område där biosensorer används - sjukvården, livsmedelsindustrin och miljöområdet - har sina specifika krav på vilket ämne som ska detekteras, på deras koncentration och på var provet ska tas, t.ex. jord, luft, vatten eller blod. Det har därför utvecklats ett antal olika biosensorsystem för olika applikationer. Utvecklingen av biosensorer för biologiska och kemiska stridsmedel måste uppfylla speciella krav vilket motiverar försvarsspecifik forskning. Detta beror på att många av de ämnen som ska detekteras är av ringa intresse för den civila marknaden och att fältmiljön ställer speciella krav på bl.a. stabilitet, robusthet och lättanvändbarhet. Nedan listas fler krav som bör vara uppfyllda för att biosensorer ska fungera kontinuerligt under fältmässiga förhållanden:

- kontinuerlig drift,
- detektion av flera ämnen samtidigt,
- möjlighet att mäta på orenade prover,
- automatisk justering av mätinställningar,
- liten förbrukning av ström och reagens,
- god precision,
- sanerbara ytor,
- lätt att förflytta.

Applikationer inom sjukvården och läkemedelsindustrin

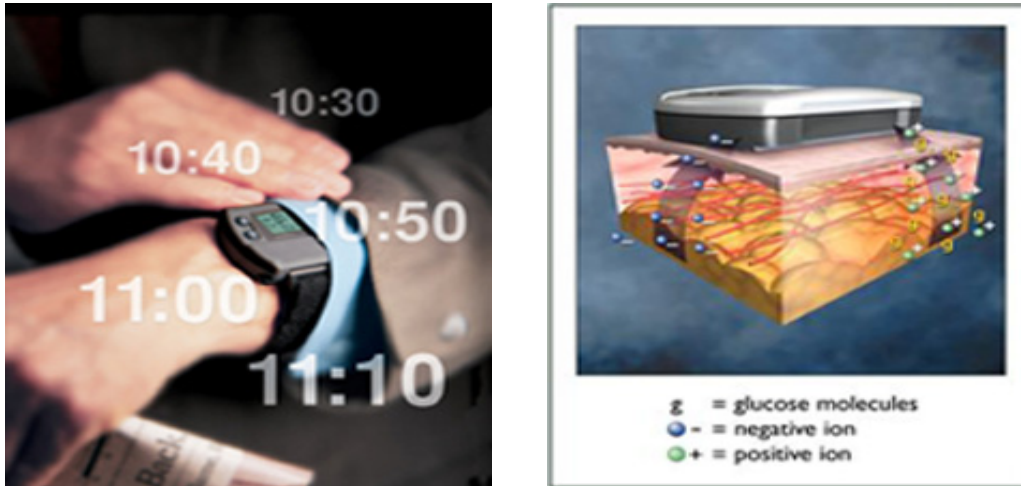
Biosensorer används idag rutinmässigt inom sjukvården för diagnostik och kontroll av olika sjukdomar. Det är nu möjligt att i blodprover mäta flera olika ämnen som t.ex. glukos, blodgaser, hemoglobin, elektrolyter och urea. En vanlig mätprincip i dessa biosensorer är att använda enzymer som är specifika för ett visst ämne, t.ex. glukosoxidas som är specifikt för glukos och kombinera det med en elektrokemisk signalomvandlare. Biosensorer med kliniska applikationer kan generellt indelas i två grupper, de som är avsedda för engångsbruk och de som mäter kontinuerligt. Det är de förstnämnda som rönt störst kommersiell framgång. Fördelarna med dessa sensorer är att sensorytan inte behöver regenereras eller kalibreras efter varje prov eftersom ett nytt chip används varje gång. En nackdel är dock att kostnaden blir hög.

Biosensorer som mäter kontinuerligt skulle kunna förbättra diagnostiken och ge en säkrare dosering av mediciner. Exempelvis kan det med inopererade biosensorer vara möjligt att kontinuerligt mäta koncentrationen av olika ämnen i kroppen och snabbt larma för avvikande värden. För t.ex. diabetiker skulle detta innebära en jämnare nivå av glukos i kroppen eftersom behovet av insulininjektioner snabbare upptäcks. Biosensorer skulle även kunna ingå i inopererade system för dosering av t.ex. läkemedel och näringsämnen. Tyvärr har utvecklingen av implantat försvårats av faktorer som biokompatibilitet, dess påverkan på immunsystemet, stabilitet, sterilitet, verkningstid och kalibrering.

Ett alternativ till inplanterade sensorer är de kontinuerliga biosensorer som placeras utanpå kroppen. Genom att ansluta sensorerna till vener eller artärer kan blodanalyser göras direkt i sensorn. Det åtgår ungefär 100 μl ⁷ blod per test och blodet kan gå till-

⁷ 1 μl är en miljondels liter

baka till kroppen eller kasseras. En fördel är att dessa biosensorer går att kalibrera externt och problem som biokompatibilitet kan undvikas. Idag finns på marknaden en glukosensor för diabetiker som kan registrera blodsockervärdena genom intakt hud, se figur 5. Den placeras runt handleden och glukosanalyser kan utföras var 20 minut under upp till 12 timmar. Blodsockermätningarna sker på så sätt regelbundet och värdena kan även lagras och jämföras under en längre tid.



© 2002 Cygnus, Inc.

Figur 5. The Gluco Watch® Biographer, en extremt låg ström appliceras på huden vilket resulterar i en jonrörelse varvid glukos penetrerar huden och ansamlas i en gel i biosensorn. Därefter bryts glukos ner med hjälp av enzymet glukosoxidas vilket genererar en svag ström som registreras med en elektrokemisk metod. Den elektriska signalen från reaktionen är proportionell mot mängden glukos.

Andra områden där biosensorer är lämpliga att använda och där intensiv forskning pågår är vid immunologiska analyser, genetisk screening och läkemedelsscreening. Det biologiska igenkännande lagret utgörs i dessa biosensorer av exempelvis antikroppar, RNA eller DNA.

Applikationer inom livsmedelsindustrin

Behovet av snabba och specifika analyser inom livsmedelsindustrin, vid fermentationer och liknande processer är stort. Bland annat är bakteriell kontaminering, pesticider⁸, antibiotika, toxiner och halter av näringsämnen några viktiga parametrar att undersöka.

Trots den intensiva forskningen inom detta område finns det få instrument ute på marknaden. Detta beror bl.a. på att de biologiska komponenternas livslängd är kort, de förlorar lätt sin aktivitet om de utsätts för icke biologiska temperaturer och pH-värden. I de biosensorer som är kommersiellt tillgängliga och kan användas inom detta område är det framför allt igenkänningsmolekyler som enzymer, antikroppar och bakterier som använts för detektion av t.ex. bakterier, kolhydrater, proteiner och aminosyror.

⁸ pesticid = skadedjur-, svamp- och växtbekämpningsmedel

Applikationer inom miljöområdet

Det finns ett stort behov av instrument som snabbt kan larma för ohälsosamma ämnen i vår omgivning. Biosensorer har en stor potential att detektera sådana föroreningar på ett snabbt och specifikt sätt. De biosensorer som utvecklats inom detta område har baserats på flera olika typer av biologiskt material som enzymer, antikroppar, celler, bakterier och organeller i kombination med olika varianter av signalomvandlare. Det har varit betydligt enklare att utveckla biosensorer för analys av vattenprover än jord- och luftprover, därför att de flesta mätprinciperna oftast är baserade på prover i vattenfas. Dessutom är biomolekylerna endast aktiva i en vätskefas.

Jordanalyser

Vid analys av jordprover används vanligen samma mätsystem som för vattenprover men dessa prover måste förbehandlas för att överföra de ämnen som finns i jorden till vätska. Idag sker detta vanligtvis manuellt med konventionella metoder men utvecklingen av automatiserade provbearbetningsprocesser skulle kunna effektivisera analyserna. Detektionen av ämnen i jord försvåras dessutom av provets komplexitet. Sammansättningen kan t.ex. variera avsevärt mellan olika platser men också provtaget från samma plats kan variera bl.a. beroende på nedbrytningsprocesser och regn.

Luftanalyser

En vanlig princip för detektion i gasfas är att först lösa upp de luftburna partiklarna i en vätskefas. Den första biosensorn för mätning i gasfas efter denna princip var baserad på en metanoxiderande bakterie för detektion av metan. När metan pumpades genom vätskan sönderdelades gasen av bakterien varvid även syrgaskoncentrationen i vätskan minskade vilket detekterades med en syrgaselektrod. Nya metoder där det är möjligt att mäta direkt i gasfas (utan att först lösa upp i vätska) är under utveckling. I dessa biosensorer är igenkänningsmolekylerna immobiliserade till olika typer av matriser.

Vattenanalyser

För analys av vattenprover finns det flera biosensorer ute på marknaden. Ett exempel är BOD-sensorer⁹ för bestämning av organiskt material i vatten. Dessa är baserade på levande bakterier och utnyttjar hur snabbt bakterier, kopplade till en syrgaselektrod, förbrukar syre vid nedbrytning av organiskt material. En sådan bestämning kan ta 1-20 minuter beroende bl.a. på vilken typ av bakterie som används och känsligheten för dessa biosensorer varierar beroende på typ av bakterie. I tabell 1 finns fler exempel på hur giftiga ämnen i miljön kan detekteras med biosensorer.

Tabell 1. Exempel på biosensorsystem för detektion av ämnen i miljön

Ämne som detekteras	Igenkänningsmolekyl	Signalomvandlare
Organiskt material	Bakterier (<i>Bacillus subtilis</i>)	Elektrokemisk
Pesticider	Enzym (kolinesteras)	Elektrokemiska
Nitrater	Enzym (nitratreduktas)	Optisk
Fosfater	Enzym (fosfatas)	Elektrokemisk
Tungmetaller, t.ex. kvicksilver och bly	Enzym (ureas)	Elektrokemisk
Formaldehyd	Enzym (formaldehyddehydrogenas)	Elektrokemisk

⁹ Biological Oxygen Demand

Applikationer inom totalförsvaret

Biosensorer med applikationer inom försvaret har stora likheter med dem som används inom miljöområdet. De ska kunna användas under fältmässiga förhållanden och proverna tas från likartade miljöer (luft, vatten och jord). Proverna kan innehålla en mängd naturligt förekommande substanser t.ex. pollen, bakterier, avgaser och rök som kan vara svåra att urskilja från det ämne som ska detekteras. Utspännings-effekterna i luft och vatten gör att det dessutom är svårt att få tillräckligt höga koncentrationer för detektionen.

De kemiska och biologiska substanser som är av intresse att detekteras inom miljö- och försvarsområdet kan även vara likartade, t.ex. organofosforföreningar. Denna typ av föreningar kan ingå i många av de bekämpningsmedel som används inom jordbruket men även användas som kemiska stridsmedel.

Organofosfatföreningar och karbamater

Flera olika typer av biosensorer har presenterats i litteraturen för analys av pesticider i dricksvatten och dessa har framför allt baserats på dessa ämnens förmåga att inaktivera kolinesteraser. Kolinesteraser bryter ned acetylkolin varvid det bildas vätejoner. I närvaro av organofosfatföreningar minskas produktionen av vätejoner. Genom att mäta mängden vätejoner med elektrokemiska mätmetoder kan det relateras till enzymets aktivitet. Denna metod mäter inte specifikt vilken typ av pesticid det är, utan ger ett mått på mängd förorening i provet utifrån enzymets aktivitet.

Det finns flera instrument ute på marknaden som gör det möjligt att detektera mikroorganismer och föreningar som kan vara av intresse för totalförsvaret, t.ex. toxiner, sporer, bakterier, explosivämnen och kemiska föreningar. En biosensor som är speciellt designad för att klara analyser under extrema förhållanden som vid mätningar i fält är Raptor^{TM10}. Med denna biosensor har det varit möjligt att detektera flera potentiella biologiska stridsmedel och toxiner.

De optiska, elektroniska och mekaniska delarna har utvecklats väsentligt från den första prototypen och instrumentet är idag bärbart, det väger ca 5 kg, se figur 6. En analys tar 3-10 minuter och kan utföras på fyra olika ytor samtidigt. Sensorytorna kan användas upp till 40 gånger eller tills ett positivt svar erhållits. Proverna har tagits från flera olika miljöer som grundvatten, jord, luft, kött och kroppsvätskor. En viss förbehandling som utspädningar och filtreringar av proverna kan behövas.

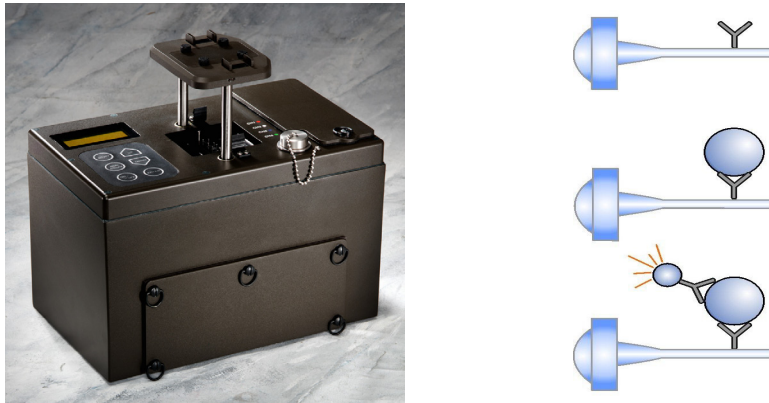
Framtidens biosensorer

Den teknologiska forskningens framsteg har medfört att potentialen för biosensorers användbarhet inom olika områden ökat. Utvecklingen av mikroprocessorer, mikroelektroder och lab-on-a-chip teknologi (se kapitel 2.6) gör det möjligt att miniaturisera sensorerna. Detta gör att det också är möjligt att integrera biosensorer i olika typer av system, t.ex. som komponenter för kontroll och reglering av läkemedelsdoseringar.

Utvecklingen inom biosensorområdet har försvårats bl.a. av att det biologiska material som ingår i sensorerna inte är tillräckligt stabilt. Det kan lätt förlora sin aktivitet om

¹⁰ Rapid Automatic and Portable Fluorometer Assay System, som är utvecklad av Research International, Woodinville, WA, USA

det utsätts för extrema förhållanden som strålning, olika temperaturförhållanden och sura



Figur 6. Till vänster Raptor, en bärbar fiberoptisk biosensor som är speciellt anpassad för detektion i fält. Till höger en schematisk bild på mätprincipen; det ämne som ska detekteras, t.ex. bakterier, binder till en antikropp som är immobiliserad på en optisk fiber. Därefter binder en andra antikropp som är fluorescensmärkt till komplexet. Bakterien detekteras sedan med hjälp av laserbaserad fluorescens. Med vederbörligt tillstånd av Research International.

eller basiska lösningar. Det har även varit svårt att tillverka sensorytor som kan användas för kontinuerliga mätningar under en längre tid. Vid denna typ av mätning ska sensorytan regenereras efter varje prov, det ämne som bundit till ytan ska kunna tvättas bort utan att det biologiska igenkännande lagret förändras. Denna process bör gå ganska snabbt så att tiden mellan mätningarna inte blir för lång.

Det finns relativt bra förutsättningar för att sådana begränsningar ska övervinnas. En intensiv forskning pågår idag för att ta fram alternativa igenkänningsmolekyler med förbättrade egenskaper som kan öka stabiliteten men även specificiteten och känsligheten. Befintliga molekyler kan modifieras men även helt nya material kan produceras. Nedan ges några exempel på alternativa igenkänningsmolekyler.

Tåligare mikroorganismer

Ett alternativ är att leta efter mikroorganismer som innehåller analytiskt användbara enzymer och dessutom tål extrema förhållanden. Det finns t.ex. organismer som är resistent mot tungmetaller eller tål höga temperaturer.

Genetiska metoder

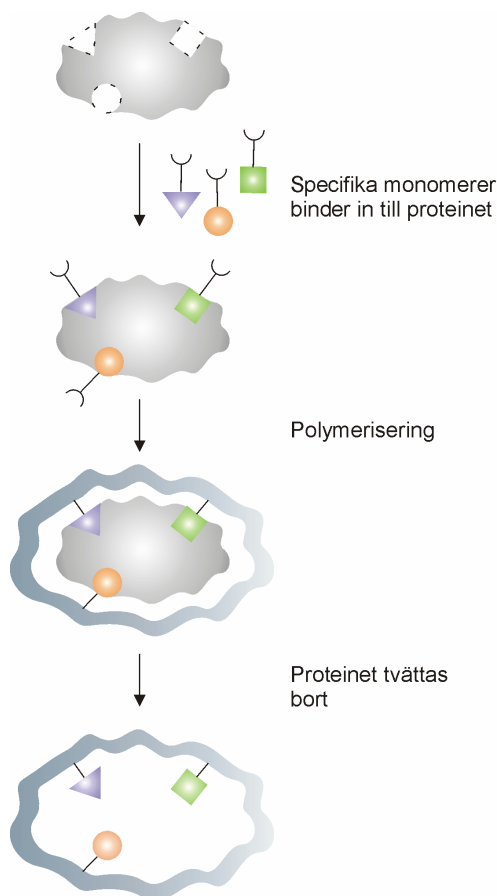
Det är också möjligt att med genetiska metoder förändra strukturen på den igenkännande molekylen så att dess stabilitet ökar eller att förändra bindningsegenskaperna så att det ämne som ska analyseras binder in med större specificitet och styrka. Denna metod kan också användas för att sätta fast förankringsgrupper så att molekylen binder bättre till sensorytan. Detta har framför allt gjorts på antikroppar men även andra mindre proteiner har modifierats. Rekombinanta metoder för syntes av igenkännande biomolekyler kan också användas för att få tillräckliga mängder och homogena molekyler.

Aptamerer

Forskningen kring att använda aptamerer¹¹ i biosensorsammanhang är relativt ny, men förutsättningarna är bra och det finns idag publikationer där dessa har använts för att detektera olika ämnen som t.ex. trombin och adenosin. Det finns även aptamerer framtagna mot några toxiner som kan utgöra ett potentiellt hot, ricin, stafylokok enterotoxin B (SEB), koleratoxin samt en aptamer riktad mot antraxsporer.

Molekylära avtryck

En helt annan teknik som kan användas för att tillverka stabilare biosensorer är molekylära avtryck, Molecularly Imprinted Polymers (MIPs), se figur 7. Med denna teknik kan syntetiska bindningsställen för en rad olika substanser produceras. Avtrycken är komplementära till det ämne som ska detekteras ifråga om form, storlek och positionen av funktionella grupper. Dessa konstgjorda bindningsställen kan binda in till det ämne som ska detekteras med en specificitet liknande den för naturliga igenkänningsmolekyler. Fördelen med att använda polymerer jämfört med biologiskt material är att de tål extrema förhållanden som sura och basiska miljöer, värme och organiska lösningsmedel.



Figur 7. Tekniken baseras på att det ämne som ska detekteras t.ex. ett protein, blandas med en typ av molekyler (monomerer) som kan binda till varandra och bilda ett plastiskt material. På dessa molekyler finns även speciella grupper som specifikt binder till proteinet. Monomererna självansamlas först runt proteinet och binder till detta på flera olika ställen. Därefter startas en polymerisering varvid monomererna binder till varandra. När polymerbildningen är klar tvättas proteinet bort. Detta resulterar i ett mönsteravtryck som bibehålls i den rigida polymeren. Förutom de specifika bindningar som bildas bidrar den tredimensionella geometrin till den specifika interaktionen.

¹¹ Aptamerer är enkelsträngade oligonukleotider av DNA eller RNA som med hög affinitet och specificitet kan känna igen ett stort antal olika molekyler. Deras funktion har stora likheter med antikroppar men några av fördelarna med aptamerer är att de är enklare att producera, stabilare och det ämne som aptameren riktas mot behöver inte ge immunologisk respons.

Molekylära avtryck har använts vid flera olika applikationer som analys av proteiner, kolhydrater, vitaminer, pesticider och morfin. De är även alternativ till antikroppar och en fördel är att molekulära avtryck går att göra av sådana ämnen som vanligtvis är svåra att bilda antikroppar mot.

Det finns många intressanta möjligheter inom biosensorområdet. Framsteg inom den biologiska forskningen kan kopplas samman med andra discipliner som kemi, fysik, elektronik och materialforskning, vilket gör att biosensorteknologi har stor potential att utvecklas. Den snabba utvecklingen inom elektronik och nanoteknologi har även gjort det möjligt att miniaturisera biosensorer. Detta gör även att provvolymerna kan reduceras ner till mikroliter eller nanoliter.

Utvecklingen på 5 års sikt

Nya biomaterial kommer att öka specificiteten och känsligheten. Betydligt mindre biosensorer kan tillverkas eftersom den teknologiska utvecklingen gör det möjligt att miniaturisera de komponenter som ingår. Miniaturiseringen gör det även möjligt att integrera flera olika steg i den analytiska processen till en enda enhet, lab-on-a-chip.

Utvecklingen på 10 års sikt

Biosensorer kan användas för ett enkelt självtest för vissa sjukdomar. Nya matriser är utvecklade för att immobilisera igenkänningsmolekyler vilket gör det möjligt att detektera direkt i luft. Sensorytor tillverkas med multikanalsystem, vilket gör att flera ämnen kan detekteras samtidigt. Biosensorer är i framtiden integrerade med mikroprocessorer som kan utföra avancerade signalbearbetningar för analys av komplexa prover.

Utvecklingen på 15 års sikt

Det är möjligt att med kroppsinbäddade biosensorer kontinuerligt mäta olika ämnen i kroppen, exempelvis naturlig variation av glukos och hormoner eller förändringar orsakade av exponering för skadliga ämnen. Detta kan även kopplas med dosering av medicin. Biosensorer med möjlighet till kontinuerlig mätning finns inom ett flertal områden, t.ex. miljöövervakning.

3.2 Identifiering av biologiska stridsmedel och andra sjukdomsalstrande organismer

Mats Forsman och Per Wikström

Introduktion

En viktig del i skyddet mot B-stridsmedel är att så tidigt som möjligt efter en B-händelse identifiera ett smittämne för att mildra eller förhindra ett sjukdomsutbrott samt säkra bevis vid misstänkt avsiktlig spridning av smittämnen. Metoder för snabb identifiering av smittämnen utvecklas kontinuerligt och i snabb takt. De klassiska tidskrävande odlingsförfarandena ersätts och kompletteras alltmer av snabbare genetiska metoder och proteinanalysmetoder.

Generell utveckling av området på kort sikt

Traditionellt inom mikrobiologi har proteinanalys med hjälp av immunologiska metoder spelat en central roll. Med immunologiska metoder identifieras smittämnet med antikroppar. Fältnässiga system som både är robusta och enkla att använda finns

utvecklade. De har dock en begränsad känslighet och kräver i många fall större mängder smittämne för positiv reaktion än motsvarande smittämnes infektionsdos. Ett annat problem med antikroppar och miljöprover är att det kan ske korsreaktioner med närbesläktade mikroorganismer som förekommer naturligt i miljön.

Flera olika sätt att öka känsligheten utvecklas dock. I vissa fall kan en förbehandling av provet, som antikroppen är riktad mot, öka känsligheten. Ett annat sätt är att specifikt amplifiera signalen för antigen-antikroppbindning utan amplifiering av bakgrunden. Ett exempel på detta är den immunologiska metod som används i USA inom CDC¹² Laboratory Response Network (LRN), uppsatt efter terroristattacker den 11 september 2001. Ett annat exempel är den nya Origen® teknologin, som också förbättrar känsligheten 100-1000 ggr jämfört med etablerade tekniker.

Utveckling av proteinchip sker för närvarande mycket snabbt. Dessa tekniker bygger på att antikroppar eller molekyler med motsvarande egenskaper fästs på en affinitetsyta och specifikt binder smittämne eller toxin. Därefter görs desorption och jonisering av komplexet och analys sker med masspektrometri (MS) (se faktaruta 6). Proteinchip har potentialen att vara snabba (20-30 min), fältanpassade och mer selektiva än existerande immunologiska mätmetoder. MS är också mycket lovande för att i framtiden användas för identifiering av alla proteiner i ett prov. Förutom masspektra för mönsterigenkänning av proteiner kan också aminosyrasekvensen bestämmas på kortare peptidfragment. Detta kan ske mycket snabbt och kommer att ha en mycket stor specificitet, eftersom identifieringen baseras på den erhållna aminosyrasekvensen.

Masspektrometri (MS)

MS är en metod för bestämning av massan hos hela och/eller delar av en jon (laddad molekyl), t.ex. ett protein. Principen är att först jonisera provet (se nobelpriset i kemi år 2002:

<http://www.nobel.se/chemistry/laureates/2002/index.html>), och registrera hur jonerna påverkas av elektriska och magnetiska fält. Jonerna påverkas olika beroende på förhållande mellan massa och laddning (m/z). En masspektrometer registrerar ett masspektrum med en signal för varje jonslag, m/z , med en intensitet som är proportionell mot jonslagets relativa förekomst.

Förbättrade joniseringsmetoder och massanalytorer och införande av datorteknik har gjort MS till en mycket känslig metod. Provmängder under mikrogram ner till pikogram är i allmänhet tillräckliga för en analys. Identifiering av organiska föreningar görs vanligen genom sökning i databaser över kända masspektra. MS är idag en standardmetod för identifiering av proteiner genom matchning av MS-data med existerande protein- och genomsekvensdatabaser.

Faktaruta 6

Parallellt pågår också utvecklingen av aptamerer och affibodies som ersättning för antikroppar. Aptamerer, som är korta bitar av arvsmassan, är stabilare och billigare att producera och framför allt är de allmänt tillgängliga när primärsekvensen är känd. En annan fördel är att aptameren också direkt eller efter påhängning av en extra nukleinsyrasvans kan amplifieras med PCR efter bindning. På så sätt kan samma molekyl binda och amplifieras för känslig detektion. Detta system kommer troligen att vara en av de mest känsliga metoderna för proteinidentifiering i framtiden eftersom amplifiering av nukleinsyra används som detektionsprincip.

Affibodies är mycket små och stabila proteiner, vars bindningsyta har genetiskt modifierats och de kan därigenom fås att binda till ett önskat protein – ett målprotein. Det

¹² CDC, Center for Disease Control and Prevention, amerikanska Smittskyddsinstitutet

går att framställa s.k. bibliotek med hundra miljarder olika varianter och på så vis kan man få fram bindare till alla tänkbara målprotein. Affibodies liknar på många sätt antikroppar, de proteiner som bildas i kroppen då immunförsvaret attackerar ämnen som är främmande för kroppen. Men tack vare att affibodies är så små och stabila och att de har mycket specifika bindningsegenskaper är de överlägsna vanliga antikroppar och liknande reagens för många tillämpningar, som t.ex. identifiering. Exempelvis är det relativt lätt att skapa anti-anti-affibodies, dvs. antikroppar riktade mot antikroppar mot affibodies, och på så sätt åstadkomma kaskadreaktioner mot en specifikt bunden affibody och därigenom amplifiera signalen. Denna teknologi har potentialen att möjliggöra mycket känslig identifiering av proteiner.

De genetiskt baserade identifieringsprinciperna, i vilket smittämnets arvs massa utnyttjas, utvecklas explosionsartat. Dessa metoder är ofta mer specifika och känsliga än de immunologiska. En förutsättning för utveckling av genetiska metoder är den kunskap om smittämnets arvs massa som idag snabbt genereras från storskaliga genomsekvenseringsprojekt (se kapitel 2.1). En stark utveckling pågår av fältmässig realtids-PCR-utrustning (se faktaruta 7). Denna typ av utrustning blir alltmer användarvänlig och automatiserad. Detta kommer i framtiden att möjliggöra känslig direktpåvisning av smittämnen on-site i realtid. I framtiden kommer därmed on-site-identifiering av biologiska stridsmedel att vara möjlig. En flaskhals för denna utveckling är dock utvecklingen av generella reningsmetoder av DNA och RNA från komplexa prover.

PCR och realtids-PCR

Utnyttjandet av Polymerase chain reaction (PCR) innebär att DNA förökas med hjälp av ett enzym. En DNA-molekyl består av två strängar som genom upphettning kan skiljas från varandra (denaturering). Till den denaturerade DNA-molekylen sätts två syntetiskt framställda DNA-bitar, oligonukleotider, som binds till DNA-kedjorna. Dessutom tillsätts enzymet DNA-polymeras, som har förmågan att föröka DNA utgående från de tillsatta oligonukleotiderna. Två dubbelsträngade DNA-molekyler erhålls genom kopieringen av den ursprungliga DNA-molekylen. De två nybildade DNA-molekylerna denatureras ånyo, och förökningsproceduren kan upprepas ett stort antal gånger.

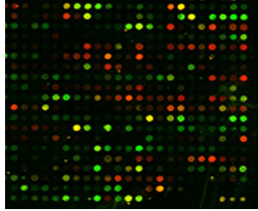
Förökningen av DNA-produkterna kan detekteras i realtid med en speciell utrustning och kallas då realtids-PCR.

Faktaruta 7

En annan utvecklingslinje är ”microbial forensic”, dvs. bevisföring i samband med brott mot svensk lag och internationella konventioner rörande hantering och spridning av smittämnen. I detta sammanhang utvecklas högupplösande metoder som kan härleda ursprung eller källa för det aktuella smittämnet. En applikation för detta är DNA-chip som kan användas för att identifiera specifika markörer för enskilda stammar av smittämnet. Dessa genetiska markörer kan sedan användas för specifik amplifiering med olika PCR-tekniker. Genetiska tekniker är i detta sammanhang överlägsna andra metoder p.g.a. av den höga upplösning som DNA-sekvensen ger. Det utvecklas en mängd andra tekniker för att härleda ursprung av smittämnen. Gemensamt är att de alla utnyttjar DNA-sekvenser från genomsekvenseringsprojekt. På lång sikt kommer troligen sekvensering av hela genom att bli den ultimata typningmetoden.

Mikromatris (Microarray, DNA-chip)

1. Applicera arvsmassa på plattan
2. Låt inmärkt DNA eller RNA binda in
3. Analysera



Får en bild av totala aktiviteten hos arvsmassan

DNA-mikromatris eller DNA-chips är glasplattor (ca 20 x 70 mm) där upp till 10 000-tals olika DNA-sekvenser/arvsanlag applicerats. Dessa DNA-chips kan användas för i princip två olika ändamål: A) identifiering av skillnader i DNA-sekvenser mellan olika individer, och B) bestämning av genuttryck hos olika typer av stimuli. Tekniken går ut på att märka in DNA eller cDNA (som kommer från mRNA) med ett fluorescerande ämne och låta detta binda in till ett DNA-chip. Inmärkt DNA/cDNA kommer att binda till de ”spots” på det DNA-chip där de är komplementära. Man får både en kvalitativ och en kvantitativ analys av de gener som finns i det inmärkta provet.

Faktaruta 8

Andra principer för känslig och snabb identifiering som utvecklas är s.k. ”rare event imaging”. Detta innebär automatiserade, on-line, mikroflödessystem där fluorescensinfärgning av mikroorganismer med specifika affinitetsmolekyler sker och identifieras med hjälp av datorstyrt fluorescensmikroskop. Hela proceduren är mycket snabb och känslig. I princip ska enstaka mikroorganismer i ett prov kunna detekteras. Teknikerna för att åstadkomma detta finns redan, utmaningen ligger i att utveckla intelligent programvara med kapacitet att snabbt scanna stora mikroskopytor.

Framtida applikationer

Utvecklingen på 5 års sikt

Generellt går utvecklingen för både genetiska och immunologiska snabbmetoder mot automatiserade, integrerade, miniaturiserade system, dvs. alla steg från provförbehandling till analys sker on-line. Dessa system möjliggör dessutom att hundratals prov kan analyseras samtidigt. Detta ger förutsättningarna för att utveckla enkel bärbar utrustning för identifiering av smittämnen i fält. Ett exempel är lab-on-a-chip, där principen är att hela analysen från förbehandling av celler, rening av DNA/RNA, amplifiering av DNA/RNA, samt detektion av amplifierad produkt sker i mikro- eller nanoskala. Ett sådant integrerat system skulle kombinera DNA-chipens massiva parallellitet med PCR-metodens specificitet och känslighet. Detta möjliggörs med etsade mikrokanaler på kiselbaserade chip som innehåller bl.a. mikroelektronik. Den stora utmaningen ligger dock i integrationen av komponenterna och validering av en prototyp. Potentialen i denna typ av produkt ligger i att få snabba (5 min), specifika (identifiera arter) och känsliga analyser till låga kostnader. Dessa chip ska genom massproduktion vara billiga att producera och vara energisnåla så att inga stora energikällor krävs.

Utvecklingen på 10-15 års sikt

Ett område som sannolikt kommer att utvecklas är att från någon typ av generell analysmetod kunna erhålla biologisk information som innehåller data i en sådan mängd att endast mjukvara med mönsterigenkänningsegenskaper kan hitta de skillna-

der/markörer som kan korreleras med det B-agens som söks. Rare event imaging (se ovan) är ett exempel på detta.

Framtida proteinanalyssystem kan komma att bygga på den specifika interaktion som finns mellan feromoner, lågmolekylära organiska molekyler som binder proteinreceptorer med hög specificitet vid låg koncentration, och artspecifika proteinreceptorer. Lågmolekylära molekyler med feromonegenskaper kan genereras med s.k. kombinatorisk kemi och olika fluorescerande inmärkningsystem för detektion av bindning kan utvecklas.

4 Förebyggande medicinsk behandling och prestationshöjande åtgärder

När Sverige i ökad utsträckning deltar i internationella fredsbevarande operationer ställs stora krav på att förbereda för och skydda deltagarna i dessa insatser. Ett av de primära kraven är att förhindra att svenskar vid utlandstjänst drabbas av svåra infektionssjukdomar orsakade av de smittämnen som normalt förekommer i de aktuella regionerna. Internationella insatser kan förekomma i länder som tidigare haft program för utveckling av biologiska stridsmedel och risk för exponering av sådana organismer föreligger. Ett gott skydd kan erhållas genom vaccinering.

Kapitlet inleds med ett avsnitt om vaccinutveckling idag och i framtiden. Det är ett område som mycket starkt har influerats av bioteknikens utveckling. Bland annat behandlas möjligheterna att framställa ätbara vacciner, d.v.s. vaccinkomponenter produceras i olika växter och när människan äter dessa sker en immunisering motsvarande den vid konventionell vaccinering. Forskning kring detta sker bl.a. för banan, tomat, sallad och olika grödor. Ett annat koncept är att vaccinera med s.k. DNA-vacciner, dvs. vaccinet utgörs av arvs massa som bär information för komponenter från smittämnen. När denna arvs massa kommer in i människans celler luras de att framställa den komponent som immunsvaret ska reagera mot.

Vaccinutvecklingen karakteriseras av en strävan mot renare och mer riktade vacciner som inte ger de idag vanliga bieffekterna och som inte fordrar upprepade vaccinationer. Dessutom är möjligheten till multivaccinering attraktiv, d.v.s. att vid ett vaccineringstillfälle erhålla skydd mot flera olika smittämnen och även olika varianter av ett smittämne.

Ett område som lovar mycket för framtiden är genmodifierade livsmedel. En applikation är de ätbara vacciner som beskrivs ovan. En annan tillämpning är att genom tillförda komponenter förbättra hälsotillståndet och prestationen hos konsumenten genom s.k. funktionell föda. Det är också möjligt att öka motståndskraften mot sjukdomar och insektsangrepp samt hållbarheten hos växter. Dessutom kan skördarna förbättras.

En utveckling som rönt mycket uppmärksamhet är möjligheten att åstadkomma prestationshöjande föda. Den amerikanska armén satsar medel på att utveckla föda med optimal fördelning av näringsämnen som ger optimal effekt på prestation och uthållighet. Exempelvis kan muskelmassan förbättras, immunförsvaret stärkas och förmågan att motstå stora påfrestningar ökas (stress, sömnbrist, smärta m.m.). På lång sikt skulle föda delvis kunna skraddarsys för att ge optimal effekt hos olika individer. I ett närmare tidsperspektiv kommer forskningen inom området funktionell föda att innebära att fältanpassad mat får förbättrad hållbarhet och högre energi- och näringsinnehåll. Det innebär även att det krävs mindre portioner för att en individ ska få i sig erforderlig mängd näring.

4.1 Vaccinutveckling för framtiden

Göran Bucht och Britt-Marie Kihlberg

Bakgrund

Redan långt innan den bakomliggande orsaken till infektionssjukdomar var känd upptäcktes intressanta epidemiologiska samband bl.a. i Kina och Indien; nämligen ”att personer som tillfrisknat efter infektioner blev skyddade mot en ny smitta av samma slag”. Dessa intressanta iakttagelser ligger till grund för den vaccinutveckling, som påskyndats av bl.a. Edward Jenner (smittkoppor) och Louis Pasteur (rabies) se tabellen nedan.

Tabell 2. Viktiga steg i vaccinutvecklingens historia

Tidiga vacciner	Efter andra världskriget
1798 Smittkoppor	1955 Poliovaccin
1885 Rabies	1962 Oralt poliovaccin
1897 Pest	1964 Mässling
1923 Difteri	1967 Kikhosta
1926 Påssjuka	1970 Röda hund
1927 Tuberkulos (BCG)	1981 Hepatit B (gulsot)
1928 Stelkramp	
1935 Gula febern	

Den snabba vaccinutvecklingen och de globala vaccinationsprogrammen startade huvudsakligen efter andra världskriget och det allmänna grundskyddet mot ett flertal olika infektionssjukdomar har stadigt höjts. Som exempel kan nämnas att skyddet hos barn mot de sex vanligaste infektionssjukdomarna (difteri, kikhosta, polio, mässling, stelkramp och tuberkulos) har stigit från ca 5 % (1970-talet) till mer än 80 % (1990-talet). Sjukdomen smittkoppor har genom vaccination utrotats och polio kan genom den påbörjade vaccinationskampanjen stå näst i tur. Förutom de nämnda sjukdomarna förväntas en rad andra infektionssjukdomar bli ovanliga eller rent av försvinna under de kommande decennierna. Ett exempel är mässling, som stadigt har minskat sedan 1960-talet och antalet rapporterade fall uppgår idag till knappt 1 % av förekomsten innan vaccinet introducerades. Men trots alla satsningar på nya vacciner skördar fortfarande många infektionssjukdomar stora offer. Exempel är de tiotals miljoner årliga fallen av HIV, tuberkulos och malaria. Tragiskt nog ökar klyftan mellan människor i rika resp. fattiga länder när det gäller möjligheten till vaccinprofylax och därför är behovet av nya, effektiva, billiga vacciner samt enkla vaccinationssätt akut.

Vacciner

Vacciner kan produceras av hela bakterier eller virus (levande, försvagade eller döda). De kan också bestå av enskilda komponenter från dessa mikroorganismer. Vacciner framställda av levande eller försvagade mikroorganismer ger generellt ett bättre och mera långlivat skydd (se tabell 3) än vacciner framställda från döda organismer eller komponenter från dem. Denna typ av vaccinering leder till en specifik immunisering där specifika antikroppar bildas eller ett specifikt cellmedierat immunsvaret erhålls (se

faktaruta 9). Passiv immunisering, då antikroppar sprutas in, ger ett kortvarigt skydd och utnyttjas endast då ett immunologiskt skydd krävs direkt, t.ex. vid en olycka med farliga smittämnen eller vid en epidemi. Passiv immunisering kan även användas preventivt t.ex. inför en utlandsresa (gammaglobulin mot gulsot) eller som behandling efter förgiftning (t.ex. ormbett).

Tabell 3. Dagens vacciner

Typ av vaccin	Skyddar mot	Verkan	Status
Levande försvagade mikroorganismer	Mässling, röda hund, gula febern, påssjuka, polio, harpest	En mild version av sjukdomen som aktiverar immunsvaret	Ger ofta lång motståndskraft, kan ge sjukdomssymptom
Döda mikroorganismer	Influensa, polio, tyfus hepatit, kolera, hjärnhinneinflammation, pest	Stimulerar immunsvaret genom att efterlikna naturlig sjukdom	Upprepade vaccinationer är nödvändiga
Komponent Inaktiva gifter, Proteiner, kolhydrater	Stelkramp, difteri, kikhosta, mjältbrand	Immunsvaret bildar antikroppar mot giftet	Upprepade vaccinationer är nödvändiga
Passiva antikroppar (antisera)	Hepatit, ormgift, rabies	Prefabricerade antikroppar injiceras	Kortvarigt skydd, utnyttjas temporärt
DNA-vaccin	Utvecklas för AIDS, influensa, malaria, tuberkulos och herpesinfektion	Immunsvaret bildar antikroppar mot cellulärt producerade antigener	Under utveckling, ger ej sjukdomssymptom

Dagens forskning

En hel del av dagens vacciner framställs från avdödade eller försvagade varianter av sjukdomsframkallande organismer som av oftast okänd anledning tappat sin sjukdomsframkallande förmåga. Utvecklingen inom vaccinframställning går mot användning av säkrare vacciner som komponentvacciner för att få mer väldefinierade vacciner med färre biverkningar. Den snabba kartläggningen av arvsanlag som nu skett påskyndar även möjligheten att identifiera de sjukdomsframkallande faktorerna. Detta kommer att leda till en bättre förståelse för infektionsmekanismer, vilket i sin tur leder till en utveckling av förbättrade vacciner och nya behandlingsmetoder. Nu finns också möjligheten att i detalj utreda den genetiska bakgrunden i vaccinstammarna i förhållande till ”moderstammen” genom att jämföra arvsmassan i varianter av samma art av mikroorganism. Exempelvis har det nyligen konstaterats att det finns olika varianter av den försvagade vaccinstam som används till vaccinframställning mot tuberkulos, vilket skulle kunna förklara de skillnader i effektivitet som funnits hos vaccinet. Detaljkännedom om arvsmassan i de sjukdomsframkallande mikroorganismerna är också till stor nytta för att få förslag till vilka faktorer som kan tänkas vara nya komponenter för vaccintillverkning i framtiden. Dessutom kan andra smittämnen identifieras som har liknande komponenter och som vaccinet därmed också kan skydda mot.

Immunsystemet kan beskrivas som två skilda mekanismer som bekämpar en infektion, en ospecifik initial reaktion som dras igång mycket tidigt efter infektionen och ett specifikt varaktigt immunsvår. Det ospecifika immunsvåret tjänar till att begränsa infektionen innan det specifika immunsvåret hinner svara. Resultatet av ett ospecifikt immunsvår är produktion av immunmodulerande ämnen som cytokiner som har till uppgift att stimulera andra delar av immunsystemet. Den andra typen av immunsvår är ett resultat av en reaktion mot unika komponenter på den aktuella bakterien eller viruset, vilket genererar ett specifikt och starkt immunförsvar som förstärks av en förnyad kontakt med det främmande ämnet, och ger upphov till s.k. immunologiskt minne. Ett vaccin kan innehålla en blandning av olika immunstimulerande ämnen.

Antikroppar är molekyler som har en konstant del som reagerar med andra komponenter i kroppens immunförsvar och en variabel del som specifikt känner igen olika främmande substanser och organismer.

Cytokiner är substanser som verkar som signalsubstanser för aktivering eller avstängning av olika celler och komponenter i immunsystemet.

En **specifik immunisering**, som framkallar en immunreaktion mot det främmande smittämnet eller mot komponenter från det, liknar immunsvåret efter en naturlig infektion och ger ett skydd mot en infektion av samma slag i framtiden. Vid en förnyad kontakt med smittämnet aktiveras immunsystemets minnesceller, expanderar snabbt i antal och börjar bekämpa infektionen. Immunceller startar produktion av antikroppar eller specifika celltyper som har till uppgift att neutralisera de främmande ämnena och börja bekämpa infekterade celler.

Epitop är den del av det främmande ämnet som specifikt känns igen av en antikropp.

Faktaruta 9

En helt annan princip för vaccinering är att använda den genetiska informationen direkt i form av s.k. genetiska vacciner (DNA-vacciner). Principen för DNA-vacciner är att utnyttja arvs massa som bär genetisk information för ett främmande protein, t.ex. ett virusprotein, och detta DNA administreras till patienter via någon av de förekommande vaccinationsvägarna. Kroppens celler tar sedan upp detta DNA och börjar producera de främmande proteinerna. Den immunologiska reaktion som framkallas liknar immunsvåret efter en infektion med organismer som invaderar våra celler, t.ex. virus. DNA-vacciner ger alltså i huvudsak ett cellmedierat immunsvår till skillnad från proteinkomponentvacciner som i huvudsak ger ett antikropps baserat immunsvår. Ur många synvinklar har DNA-vacciner fördelar gentemot traditionella vacciner, lägre produktionskostnad, snabbare reningsmetoder och högre stabilitet. Dessutom är det för vissa svårarbetade virus betydligt enklare att arbeta med arvs massan än med viruspartiklarna. En mängd framgångsrika försök med DNA-vacciner har utförts i olika djurmodeller. Försök på människor har hittills inte varit lika framgångsrika, men fortsatt utvärdering pågår. Forskning inom detta område är viktig med tanke på att det fortfarande saknas effektiva vacciner mot många virussjukdomar. Forskning pågår också med avseende på utveckling av DNA-vacciner mot ett flertal olika sjukdomar, bl.a. cancer, AIDS och nyligen också mot mjältbrandsbakterien. Denna bakterie producerar toxiner som verkar intracellulärt och det är arvs anlaget för dessa toxiner som nu utvärderas som DNA-vacciner. Ännu finns dock inga registrerade DNA-vacciner att köpa.

Vid vaccination med traditionella vacciner erhålls för det mesta ett immunsvår som är riktat mot de immunologiskt sett starkaste komponenterna. En problematik vid utveckling av vacciner är att mikroorganismens akilleshäl ofta är dold och inte sällan immunologiskt svag. För att skapa effektivare vacciner är det därför önskvärt att identifiera de komponenter som framkallar det önskade immunsvåret. Ett annat problem är att många sjukdomar orsakas av att smittämnen lurar immunsvåret att bli ineffektivt. Varje mikroorganism har en uppsjö av immunstimulerande regioner på sin yta. Det har visat sig att det inte alltid är de komponenter som starkast aktiverar

immunsvaret som leder till ett snabbt tillfrisknande. Ibland kan även ett oönskat starkt immunsvar vara förödande för den infekterade individen då antikroppar på virusytan kan påskynda infektionsprocessen (t.ex. i denguefeber) genom att effektivisera upp-taget av virus in till cellen.

Även om valet av vaccinkomponent är viktigt är det inte uppenbart hur immunförsvaret kommer att reagera. En annan viktig del i processen är hur det immunstimulerande ämnet presenteras för immunsystemet. En intensiv forskning pågår som syftar till att designa och rikta de nya vaccinerna så att ett önskat immunsvar erhålls.

Immunstimulerande tillsatser (adjuvant) är nödvändiga för att stärka immunsvaret, speciellt mot svaga antigener. Likaså är presentationsvägen, d.v.s. via injektion i blod eller muskel, via mag-tarmsystem eller lunga, viktig för att erhålla ett optimalt immunsvar. Nya tekniker kan också användas för att tillföra adresslappar till vaccinkomponenten så att en ”målsökning” mot immunsystemets celler erhålls. Den typ av immunsvar som önskas varierar beroende på sjukdom, dvs. olika typer av vacciner kan krävas för att ge optimalt skydd mot sjukdom orsakade av olika mikroorganismer.

Framtidens vacciner

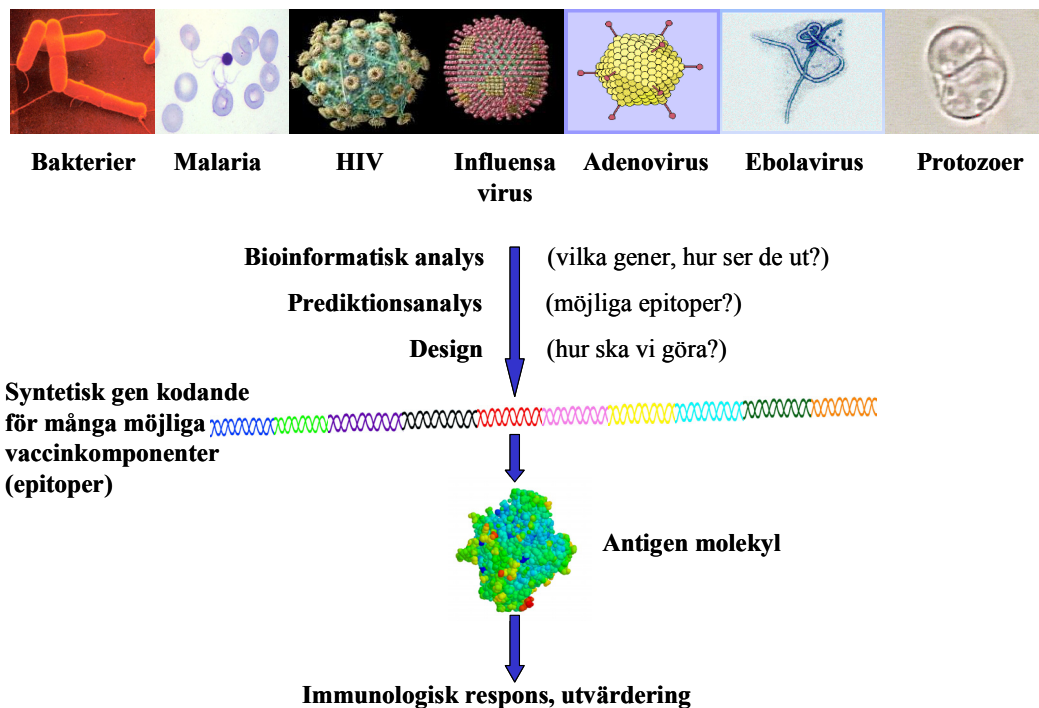
Ett nytt koncept för vaccinering eller vaccinframställning föreslogs under mitten av 1990-talet som ett svar på WHO's efterfrågan av billiga vacciner. Den idé som kläcktes var att producera vaccinkomponenter i växter. Växtbiologer hade lyckats överföra artfrämmande gener till växter, s.k. transgena växter. När de ätbara delarna ur de transgena växterna förtärs sker en oral vaccinering. Fördelarna skulle vara enorma, bl.a. kan de transgena växterna odlas lokalt och efter traditionella metoder för varje given region. Växter som fungerar som vacciner skulle lösa många hygieniska och ekonomiska problem, bl.a. kravet på sprutor, som p.g.a. dålig hygien kan leda till sekundära infektioner. Idag sker forskning kring transgena växtvacciner i många olika arter, bl.a. bananer, potatis och tomater och dessutom i grödor som alfalfa, sallad, ris, vete, sojabönor och majs. Exempel på ovannämnda koncept är framställning av vaccinkomponenter från hepatit B (gulsot) virus i transgena potatisar. Även mul- och klövsjukeviruskomponenter har framställts i växter. Dessa exempel representerar den senaste trenden inom vaccinutvecklingen, nämligen produktion av vaccinkomponenter i odlingsbara kulturväxter samt demonstration av oral immunisering och framkallande av immunsvar mot den tänkta mikroorganismen. Den största tekniska svårigheten är att få en tillräckligt hög produktionsnivå och ett långsiktigt stabilt uttryck av vaccinkomponenten.

I framtiden kommer vaccinutvecklingen att gå mot renare och mer riktade vacciner, antingen i form av genetiska vacciner (DNA, RNA) eller som komponentbaserade vacciner (t.ex. proteiner, peptider, kolhydrater och lipider). Tanken att vid samma tillfälle vaccinera mot flera olika typer av smittämnen eller mot olika varianter av samma smittämne är attraktiv. För att lyckas få fram ett effektivt vaccin av detta slag bör en immunrespons framkallas som (kors-) reagerar med olika varianter av ett smittämne på ett effektivt sätt. För att kunna skapa dessa framtida vacciner måste forskningen identifiera vilka strukturer/epitoper som neutraliserar smittämnet (se figur 8). Därefter måste också dessa vacciner effektivt presenteras för immunsystemets olika celler genom en relevant vaccineringsmetod så att ett önskat immunsvar induceras.

Ett helt nytt koncept är att immunologiskt söka efter kemiska föreningar som framkallar ett immunsvar mot vissa smittämnen. Sådana föreningar kan antingen likna ytkomponenter på mikroorganismerna eller helt enkelt bara framkalla ett immunsvar

som korsreagerar emot dem. Dessa vacciner kan också indirekt påverka sjukdomen via en sekundär mekanism. Ett flertal olika sjukdomar (cancer, smittämnen eller allergier av olika slag) kan tänkas vara behandlingsbara genom dessa tekniker.

Ett annat aktuellt område är s.k. ”epitop screening” vilket innebär att man aktivt letar efter korta aminosyrasekvenser som har en förmåga att stimulera immunsvaret emot mikroorganismen av intresse. Många gånger måste ett vaccin väcka ett bättre immunsvaret än den sjukdomsframkallande organismen. Exemplet är många där en genomgången sjukdom inte har eliminerat den sjukdomsframkallande mikroorganismen, dvs. immunförsvaret har inte haft fullständig framgång. Vaccinering med korta aminosyrasekvenser genererar ett immunsvaret emot mikroorganismens ”akilleshäla”. Man kan också förändra antigenet så att det binder starkare än den naturliga motsvarigheten eller tillföra immunomodulatorer tillsammans med antigenet för att styra immunsvaret i önskad riktning.



Figur 8. Design av DNA-vaccin som samtidigt skyddar mot många olika mikroorganismer

Det är också möjligt att blanda DNA-vaccinering med andra vaccineringstekniker, den s.k. prime/boost-tekniken. Idén med detta är att primärimmuniseringen ger riktningen på immunsvaret som sedan förstärks.

4.2 Funktionell föda

Susanne Lundberg

Bakgrund

Funktionell föda är sådan föda som innehåller en eller flera, redan existerande eller tillsatta, komponenter som bevisligen förbättrar hälsotillståndet hos konsumenten. Andra effekter av sådana komponenter kan vara ökad motståndskraft eller hållbarhet hos produkten eller att kroppens utnyttjande av produkten underlättas. Idag är det också med bioteknologiska metoder möjligt att integrera arvsanlaget för komponenten i bärarens arvs massa (framför allt växter).

Befolkningsexplosionen och det faktum att medvetenheten hos konsumenterna ständigt ökar medför att behovet av alternativa hälsobefrämjande åtgärder förstärks. Därmed har också intresset för funktionell föda förstärkts hos beslutfattare, kommersiella intressenter och forskare. Framför allt i Japan och USA har fler och fler produkter de sista åren fått rätten att rubricera sig som funktionell föda, och nätverk bildas i syfte att säkerställa kvaliteten på dessa produkter. Forskningen är idag intensiv kring substanser som skyddar mot hjärt- och kärlsjukdomar, cancer, infektioner och åldrande.

Några exempel på produkter som idag klassas som funktionell föda är följande:

Havrekli

Havrekli innehåller naturligt s.k. lösliga fibrer, som sänker halten LDL (Low Density Lipoprotein) och kolesterol, vilket minskar risken för hjärt- och kärlsjukdomar. Det är känt att fibrerna interagerar med och späder ut gallsyror och dessutom sänker pH i tarmen. Detta leder i förlängningen till att fett och kolesterol i mindre grad adsorberas av tarmen. Det har även visats att vissa nedbrytningsprodukter av fibrerna, nämligen korta fettsyror, sänker nivån på kolesterol i serum och minskar risken för cancer.

Probiotics och Prebiotics

Probiotics är bakterier som påverkar tarmfloran positivt, och prebiotics sådana ämnen som kan fungera som näring för dessa bakterier. Med rätt tarmflora bryts fibrer ned till korta fettsyror, som sänker halten kolesterol och pH (se ovan). Det är inte bara bioaktiva fettsyror som är intressanta, utan även peptider, som fås från bl.a. mjölkprodukter. Dessutom verkar vissa bakterier, t.ex. *Lactobacillus* och *Bifidobacterium* i högre grad förse tarmen med skydd mot infektioner samt reducera risken för kroniska tarminfektioner och tarmcancer. Det finns idag en mängd produkter ute på marknaden där probiotics eller prebiotics har tillsats.

”Golden rice”

Med bioteknologiska metoder har gener, som innehåller information för syntes av provitamin A, överförts till risets arvs massa. Man har även lyckats reglera genuttrycket så att vitaminet återfinns i risets ätliga del. Syftet är att öka tillgången på A-vitamin för fattiga i framför allt Asien. Även om konsumtionen av ”golden rice” måste vara tämligen hög för att tillfredställa dagsbehovet av vitaminet har produkten fått tillräckligt god respons för att den vetenskapliga upptäckten ska omsättas till praktisk nytta. Bakom detta ligger ca 30 års forskning, och man räknar med ytterligare fem år innan produkten kommer ut på marknaden. Dock kommer troligen framtida

forskning att gå betydligt snabbare i och med den utveckling som har skett under senare år med avseende på tekniker och metoder (se kapitel 2 och 3).

Teknisk utveckling

I takt med att information lagrad i människans arvs massa kan korreleras till faktiska komponenter och skeenden i kroppen (se kapitel 2.1) ökar kunskapen om vilka ämnen som kan förbättra vårt hälsotillstånd. Som tidigare nämnts är det idag möjligt att studera effekten av ett ämne tillsatt till cellkulturer, både på mRNA- och proteinnivå. Detta har haft stor betydelse för utvecklingen inom läkemedelsindustrin (farmakogenomik, se kapitel 5.2) och samma resonemang kan tillämpas vid utvärdering av näringsämnen. Genom att följa mRNA-uttrycket hos möss har man t.ex. konstaterat att de effekter (upp- och nedreglerade mRNA nivåer) som ses som respons på åldrande kan motverkas av minskat kaloriintag. I ett annat djurförsök där proteinuttrycket följdes som svar på en effektormolekyl vars syfte var viktreducering, konstaterades att 16 proteiner förändrade sitt uttrycksmönster och av dessa deltog 14 i den process som leder till nedbrytning av fett. Denna gren av proteomiken som syftar till att följa metaboliska skeenden brukar benämnas ”metabolomics” (se även kapitel 2.1). Med dessa detaljerade utvärderingar kan man förutom att konstatera att det ämne som tillförs kroppen har önskad effekt även säkerställa att inga oönskade sidoeffekter uppstår. Teknikerna är också ovärderliga för att identifiera s.k. biomarkörer, d.v.s. gener eller proteiner som kan användas som mått på hur individen reagerar på exempelvis ett näringsämne.

Dessa och närliggande tekniker är användbara inom ytterligare områden. Olika individer varierar i sin benägenhet att drabbas t.ex. av olika sjukdomstillstånd eller brist-sjukdomar. Detta beror ofta på mycket små skillnader i genomet och därmed även korresponderande proteiner. Genom att identifiera dessa små skillnader kan detta förhindras i tid genom att tillföra den substans individen riskerar att i en framtid lida brist på. Detta resonemang har applicerats på en variant av A-vitaminbrist som har sin orsak i ovan beskrivna fenomen.

Ett ytterligare forskningsområde som är av relevans för möjligheten att använda sig av funktionell föda är produktion av önskade substanser i bärarorganismer som bakterier, och framför allt växter. Trots de tveksamheter som finns kring att använda genetiskt modifierad mat är detta ett område som har expanderat kraftigt senare år, och det är troligt att den ökade kunskapen kommer att leda fram till ett större förtroende hos konsumenten i framtiden. Befolkningsexplosionen, framför allt i tredje världen, har varit den drivande kraften för produktion av ”golden rice”, och det är troligt att vi kommer att se många liknande produkter i framtiden. Bland framtida visioner kan nämnas järnberikad föda, och föda berikad med essentiella aminosyror.

Applikationer för totalförsvaret

Ur totalförsvarets synvinkel är detta intressant ur flera aspekter. Ökad hållbarhet (t.ex. om behovet av kylning minskar) underlättar lagring, transport och förvaring av produkterna. Ett högt näringsinnehåll eller produkter där näringsupptaget stimulerats leder till att mängden föda kan reduceras. Ur hälsobefrämjande aspekt utgör infektionsskyddande substanser förmodligen det område där totalförsvarets intresse är störst. Den viktigaste delen av detta område är det som kallas ”ätbara vacciner”, se kapitel 4.1 Vaccinutveckling. En ytterligare konsekvens kan vara att möjligheten att

utnyttja växter där de aktiva substanserna finns integrerade i arvsmassan medför att det blir möjligt att producera födan på plats.

I bl.a. USA pågår en ständig utveckling av den föda som används ute i fält, antingen som matransoner för de aktiva eller i form av donerade matransoner till befolkning på plats. I en jämförelse mellan den mat som användes under Gulfkriget 1991 och kriget i Afghanistan 2001 konstateras att det ställs oerhörda krav på dessa matransoner, de ska vara hållbara, okänsliga för stora temperatursvängningar, möjliga att förpacka på ett utrymmessnålt och skyddat sätt, lätta att laga till, energi- och näringsrika, lätt-smälta och inte minst aptitliga.

Prestationshöjande medel kan fylla många funktioner, bl.a. att

- förse kroppen med energi som snabbt kan mobiliseras,
- bibehålla kroppens muskelmassa,
- stärka immunförsvaret,
- minska riskerna för nedsatt mental och fysisk förmåga vid särskilt påfrestande situationer (sömnbrist, långvarig fysisk och psykisk utmattning).

Möjligheten att åstadkomma prestationshöjande medel har noga utvärderats av "Committee on Military Nutrition Research", FNB (Food and Nutrition Board), USA, och resultatet presenteras i ett antal rapporter som finns summerade i en s.k. "activity report". Syftet är att åstadkomma föda med optimal fördelning av fett, kolhydrater, proteiner/aminosyror samt andra metaboliter och därför har dessa komponenters inverkan på prestation, muskelmassa och uthållighet utvärderats. Detta har bl.a. resulterat i två s.k. PERC:s (Performance Enhancing Ration Components); "ERGO drink" and "HooAH bar". ERGO förser främst kroppen med nödvändiga kolhydrater och HooAH har en mer komplex sammansättning, bl.a. ingår koffein som tillsatts i stimulerande syfte. Koffeinets inverkan på fysisk och psykisk prestationsförmåga har analyserats, och substansen har visat sig vara effektiv i båda avseendena. Bortsett från att vätskebrist uppstår så har inga bestående sidoeffekter observerats, vilket lett till en rekommendation att använda 100-600 milligram doser av koffein i särskilt ansträngande situationer. På liknande sätt har man även undersökt huruvida verksamhet på hög höjd eller vid extrema temperaturer kräver särskilda näringstillskott samt utvärderat effekten av antioxidanter (t.ex. C-vitamin och betakaroten) på det som benämns oxidativ stress (kan orsakas av hög höjd, extrem fysisk utmattning, radio- och mikro-vågor). I summeringen av dessa två undersökningar ges inga rekommendationer till ändringar i existerande matransoner, förutom i mycket extrema situationer.

Även olika substansers positiva inverkan på immunförsvaret har utvärderats. Inom detta område finns ett stort antal substanser/metaboliter som är bevisat immunförsvarsstärkande, bl.a. A-, B- och C-vitamin, järn, koppar, selen och fleromättade fettsyror. Vid den tidpunkt som denna rapport utgavs (1997) hade dock forskningen inom området inte nått tillräckligt långt för att några specifika rekommendationer skulle kunna fastslås. Detsamma gällde en rapport där proteiners och aminosyror påverkan på kapaciteten hos soldater undersöktes. En gemensam nämnare för alla dessa rapporter är att en välbalanserad näringsriktig kost är oerhört viktig för individens prestation. Vikten av väl underbyggd forskning poängteras också - innan ett näringsämne tillförs bör det noggrant ha utretts om det finns några skadliga effekter.

Framtida utveckling

Utvecklingen på 5 års sikt

Fler produkter med förstärkt näringsinnehåll liknande ”Golden rice” kommer att vara under utprovning men förmodligen inte kommersiellt tillgängliga. Utvecklingen inom proteomik, genomik och metabolomics kommer att ha resulterat i snabbare och mer exakta metoder för att följa svaret av ett administrerat ämne. Det kommer förmodligen även att vara möjligt att följa svaret i mer komplicerade matriser än idag, exempelvis hela vävnader.

Utvecklingen på 10-15 års sikt

Inom denna tidsperiod är det möjligt att man utifrån individens gen- och proteinmönster samt den omgivning individen kommer att befinna sig i kan ”skräddarsy” föda med kanske inte optimalt, men dock förbättrat näringsinnehåll. Effekten av de prestationshöjande ämnen som idag undersöks kommer att vara känd, och denna kunskap kommer att kunna appliceras exempelvis som prestationshöjande medel för totalförsvaret.

5 Behandling av infektioner, förgiftningar, sår-, kropps- och nervskador

En förutsättning för att kunna ge relevant behandling vid sjukdom är att rätt diagnos ställs så snart som möjligt. Avsnittet inleds med en beskrivning av dagens och för framtiden bedömda metoder för att förbättra de medicinska möjligheterna till snabb och relevant sjukdomsdiagnos. Dagens metoder gör det möjligt att samtidigt mäta förändringar i en stor mängd kroppsparametrar vilket sannolikt kommer att revolutionera diagnosen av exempelvis infektionssjukdomar inom det närmaste decenniet.

En tidigt ställd korrekt diagnos ger optimala möjligheter för effektiv behandling. Men samtidigt varierar förutsättningarna för framgångsrik behandling mellan olika individer. Det är idag känt att vi människor har genetiska skillnader som gör oss olika mottagliga för läkemedel. Kunskaper inom detta område, farmakogenomik, kommer att leda till förbättrade chanser för optimal medicinsk behandling av olika sjukdomstillstånd. Den kunskap som farmakogenomiken genererar kan också utnyttjas för att undersöka en individs risk för att utveckla sjukdomar.

Det finns idag tillgång till en mängd olika antibiotika för behandling av bakteriella infektioner, men uppkomsten av resistens har skapat ett behov av nya antibakteriella substanser och alternativa behandlingsmetoder. Möjligheterna att behandla virusinfektioner är fortfarande sämre än för bakterieinfektioner även om en rad nya antivirala medel utvecklats under det senaste decenniet. Den förbättrade kunskapen om hur smittämnen förökar sig hos människor och djur har medfört att utvecklingen av antibakteriella och antivirala medel nu sker med utgångspunkt från kända verkningsmekanismer. Kartläggningen av människans och en mängd smittämners arvs massa tillsammans med utvecklingen av mikromatriser där tusentals olika förändringar samtidigt kan studeras har resulterat i att det finns helt nya möjligheter att studera verkningsmekanismerna vid infektion både hos smittämnet och hos värdorganismen, vilket nu i snabb takt genererar information om nya möjliga mål för att bekämpa infektioner.

Akut lungskada är en trolig konsekvens efter att kemiska stridsmedel spridits eller vid omfattande utsläpp av giftiga industrikemikalier. Dagens forskning bidrar till att klarlägga samspelet mellan exponering av kemiska ämnen och individens ärftliga benägenhet att drabbas av kemiskt inducerad lungskada. Den genererar också ny kunskap om cellulära svarsmekanismer vid kemiska exponeringar. Denna samlade kunskap kan därefter användas för att identifiera nya strategier för medicinsk behandling. Exempelvis kan biotekniskt framställda produkter specifikt inhibera de kaskadliknande reaktioner som leder till ett inflammatoriskt svar, förhindra den skadeprocess som sker i lungvävnaden och underlätta för lungan att tillgodogöra kroppens behov av syre.

Artificiell vävnadskonstruktion i kombination med tillförsel av tillväxtfaktorer har införts som behandling av olika typer av kroppsskador, t.ex. frakturer, skador på menisk och ledbrosk samt kärlskador. Idag har utvecklingen hunnit långt när det gäller artificiella syrebärande plasmaexpanders, s.k. konstgjort blod, och flera varianter genomgår klinisk prövning. Den ökade kunskapen om sår-läkningsprocessen i kombination med utvecklingen inom bioteknik har revolutionerat behandlingen av sår, bl.a. kan vi idag skraddarsy molekyler, celler och till och med vävnad (exempelvis hud) för att påskynda sår-läkning. Artificiell hud kommer sannolikt att förbättra

läkning efter kirurgi och behandling av brännskador. Dagens forskning kring de antibakteriella peptiderna i huden kan leda till utveckling av nya läkemedel med möjliga användningsområden i kroniska sår, i akuta infekterade sår eller brännskador.

De senaste decenniernas neurologiska forskning har genererat kunskap om olika sjukdomstillstånd i nervsystemet, men kunskapen har ännu inte kunnat överföras till det kliniska omhändertagandet av hjärnskadade personer. För framtiden förutses att detta radikalt kommer att förändras bl.a. med avseende på utveckling av specifika läkemedel, metoder för att administrera läkemedel såsom genterapi och nya behandlingstekniker, t.ex. användning av stamceller. Det är sannolikt att nya behandlingsalternativ för neurodegenerativa och neuroinflammatoriska sjukdomstillstånd blir tillgängliga tidigare än för neurotrauman.

5.1 Den framtida sjukdomsdiagnosen

Anders Sjöstedt

Bakgrund

Grunden för infektionsdiagnostik har sedan mer än 100 år varit biokemiska och morfologiska analyser. Principen att identifiera bakterier i prover från patienter har baserats på provtagning med ”pinnar” och odling från dessa eller av flytande prover på agarplattor. De kolonier som har växt har karakteriserats en och en, bl.a. genom mikroskopering. Skillnad i ämnesomsättning utnyttjas vid biokemisk laboratoriediagnostik. Härvid används dels substrat som endast tillåter vissa grupper att växa och dels substrat som framhäver artspecifika egenskaper.

Virusinfektioner är i allmänhet svårare och mer tidskrävande att diagnosticera än bakterieinfektioner. I vissa fall kan virus påvisas direkt i prov med immunofluorescensmikroskopi (t.ex. svalgsekret) eller med direkt elektronmikroskopi (t.ex. avföring, material från hudblåsor). Immunologiska metoder används oftare i virusdiagnostik än i bakteriediagnostik. I de fall virus inte kan påvisas direkt återstår att försöka odla det i cellkultur innan en diagnos kan ske, då ofta med immunologiska metoder. Om ett virus inte kan odlas eller på annat sätt identifieras återstår endast att mäta om den sjuke har en förhöjd halt av antikroppar mot detta virus i blodet, så kallad serologisk analys. För detta ändamål behövs två blodprover, ett taget direkt efter insjuknandet och ett efter 2-3 veckor, då en maximal halt av antikroppar finns i blodet.

Serologisk diagnostik används även för bakterieinfektioner, t.ex. för svårödlade bakterier som vid borreliosis, syfilis och *Helicobacter*-infektion samt vid tarminfektioner orsakade av *Salmonella* och *Yersinia*. Antikroppar kan även användas för direkt påvisning av virus och bakterier i olika typer av kliniska prover.

Aktuella frågeställningar

Under det senaste decenniet har våra ökade kunskaper om bakteriers genetiska och kemiska sammansättning tillsammans med en teknisk utveckling inneburit att vi erhållit nya diagnostiska möjligheter. Bland dessa kan nämnas monoklonal antikroppsteknik, gaskromatografi och andra kromatografiska och spektrofotometriska metoder samt utnyttjande av DNA-hybridiseringsteknik (se kapitel 3.2).

Det finns även andra områden där en förfinad infektionsdiagnostik kan förklara orsaken till sjukdomar. Det gäller en rad sjukdomar där den direkta orsaken är okänd, t.ex. vissa s.k. autoimmuna sjukdomar. Orsaken till dessa anges ofta vara en rubbning av immunsystemet men bakteriers och virus roll i detta sammanhang är oklara. En viktig faktor som kan vara en grund för att förstå kopplingen mellan mikrober och sjukdomar är en förbättrad kunskap av kroppens mikroflora.

Mikrober finns i stort antal i munhåla, tarm, vagina och hud. Många mikrober överlever bara i människokroppen men det är också möjligt att vissa kroppsfunktioner försätter deras närvaro, dvs. en symbiotisk samlevnad. Genom en systematisk undersökning av de olika ekologiska nischernas normalflora kan vi förhoppningsvis identifiera rubbningar i florans som direkt eller indirekt ger upphov till sjukdomar, exempelvis Crohns sjukdom, gingivit, periodontit och endokardit¹³. Klamydia och andra bakterier som ger upphov till ett långvarigt bärarskap är föremål för en intensiv forskning för att klarlägga dess eventuella roll vid uppkomsten av kärlskador. Munhållans bakterier formar ofta s.k. biofilmer och sådana mikrober går normalt inte att odla på sedvanligt sätt. Ärkebakterier som utgör en helt unik gren av livets träd, helt skild från vanliga bakterier, har aldrig visats orsaka något sjukdomstillstånd men finns normalt i tarmen. Vi har i vår kropp ett mycket stort antal s.k. retrovirus och en möjlighet är att närvaron av dessa kan påverka hur de mänskliga generna fungerar så att ett sådant virus indirekt kan ge upphov till sjukdom. Dessa exempel visar att det kan finnas brister i våra traditionella metoder för mikrobiologisk diagnostik och att det är möjligt att mikrober som vi inte kan påvisa med traditionella metoder orsakar eller påverkar olika sjukdomstillstånd. Om vi kan följa kvantitativa och kvalitativa förändringar i kroppens normalflora kommer vi att få en bättre förståelse av dessa samband och kanske orsaken till en rad sjukdomar.

Som tidigare nämnts finns det mycket som talar för att våra traditionella mikrobiologiska metoder inte är tillfyllest för att fullständigt identifiera de mikrober som utgör vår normalflora och inte heller ett flertal av de sjukdomsframkallande organismerna. En redan etablerad metod som inte utnyttjats fullt ut för dessa ändamål är PCR, vilken kan användas för att påvisa gener och gensegment som är konserverade bland alla bakterier. I första hand används ribosomala gener¹⁴ för detta ändamål. Genom att först använda PCR och sedan sekvensera generna kan hundratals eller ännu fler bakteriearter identifieras i komplexa populationer. Metoden är allmänt använd idag, framför allt för att påvisa bakterier i prover som normalt är sterila. I de få fall när tekniken har använts för att karakterisera normalfloran har det visat sig att en relativt stor andel av de identifierade bakterierna inte tidigare har karakteriserats eller att de inte går att odla fram med traditionella tekniker.

Med molekylära tekniker har även ny information kommit fram gällande infektioner utan känd orsak. Det är ofta möjligt att med förfinade molekylära metoder finna kända sjukdomsframkallande organismer från dessa patienter. En slutsats är att mer undersökningar behövs för att identifiera vilka typer av prover som behövs för att kunna förbättra diagnostiken vid sjukdomstillstånd utan känd orsak.

Ett annat sätt att studera dessa värd-parasit-interaktioner är att följa hur molekylerna i kroppen påverkas i närvaro av olika mikrober. Det har tidigare varit omöjligt att göra

¹³ Inflammation i tarm, tandkött resp. hjärtsäck.

¹⁴ Kommer från cellernas ribosomer som har en viktig roll i cellers proteinsyntes.

detta i stor skala p.g.a. metodologiska begränsningar men utvecklingen av s.k. DNA-mikromatriser har förändrat förutsättningarna. Nivåerna av messenger-RNA, vilket är ett mått på aktiviteten hos arvsmassan, kan nu mätas för tiotusentals arvsanlag samtidigt. Genom användning av olika typer av fluorescens kan skillnader mellan t.ex. normalsituationen och den vid infektion direkt påvisas. Preliminära resultat talar för att enskilda mikrober kan ge upphov till likartade förändringar hos olika individer.

Framtida applikationer

Traditionella metoder för att påvisa infektioner generellt är att påvisa exempelvis en förhöjd sänkereaktion eller förhöjda proteinhalter (t.ex. C-reaktivt protein i blodet). Genom storskalig mikromatrisanalys kan detta göras med en mycket högre upplösning och inte bara ge information om en infektion föreligger utan också om typen av infektion. Fortfarande saknas många verktyg för att vi på ett optimalt sätt ska kunna tillgodogöra oss den information som finns dold i det stora antalet mätvärden. Vi behöver kunna modellera tids- och dossamband för genuttryck vid infektioner samt kunna korrelera uttrycket hos värd och mikrob under infektionen. Dessutom fordras utveckling av databaser som kopplar samman genomsekvenser, expressionsdata och data kring funktioner. En sådan analys kan också tillföra ytterligare en diagnostisk dimension genom att påvisa infektioner med likartade effekter. Speciella signaturer kan exempelvis vara möjliga att upptäcka för luftburna infektioner genom att dessa påverkar vissa kroppsceller som inte finns på andra ställen i kroppen. Vidare kan de också påvisa närvaro av bakterier som använder likartade sjukdomsframkallande mekanismer.

En annan teknik som verkar att på samma sätt som DNA-mikromatriser kunna ge en helhetsbild av förändringar i kroppen vid infektioner är det som kallas metabolomics. Med dessa tekniker kan man följa hur lösliga molekyler i kroppen, t.ex. i blodet eller i ett speciellt organ, förändras. Metabolomics har ännu inte använts för att systematiskt undersöka förändringar vid infektioner men data från helt andra system talar för att teknikerna är tillräckligt känsliga för att beskriva förändringar som är specifika för infektioner. Termen syftar på att ett tillstånd som eventuellt inte förändrar en cell till det yttre fortfarande kan påvisas om koncentrationerna av de metaboliter som cellen producerar kan följas i detalj. Genom att jämföra koncentrationerna av dessa metaboliter, s.k. metabolomet, i frånvaro och närvaro av en infektion kan tecken på infektionen ses. Det är även möjligt att få en förståelse för vad som är specifikt påverkat i cellen. Dessa metaboliter är mycket färre än det antal gener eller proteiner som finns i en cell (utgör mindre än 10 % av antalet gener). Därför ställs också mindre krav på teknikernas upplösning i dessa system.

Experimentella analyser har gjorts i exempelvis jästceller där effekten av två enzymer är komplementära, d.v.s. avsaknaden av den ena kompenseras av närvaron av den andra. Till det yttre ses därför ingen skillnad om cellen saknar bara det ena enzymet. Celler som saknade det ena eller det andra av dessa enzymer jämfördes och ett antal metaboliter som var associerade till deras funktioner analyserades. Tydliga skillnader i några av dessa fall identifierades. I teorin kan sådana spektra upprättas för alla kända metaboliter men förmodligen kommer analysmetoderna inte att tillåta detta. Därför har komplexa metoder för statistisk bearbetning av profiler utarbetats. Dessa kan visa på förändringar i mönster som indikerar en speciell infektion även om inte alla metaboliter är kända. I framtiden kommer naturligtvis blod att vara en provtyp som kan analyseras men även provtyper som är enklare att ta, t.ex. urin, kommer sannolikt att ge värdefulla upplysningar.

I likhet med DNA-analys med mikromatriser kommer tids- och dossamband att behöva karakteriseras och sambanden metaboliter och funktioner kopplas ihop i databaser. Även kopplingen mellan dessa samband och de som erhållits med DNA-mikromatrisanalyser kommer att vara av stort intresse. En sådan detaljkunskap kring värdsvaret vid infektion kommer inte bara att vara betydelsefull för diagnostiken utan också för förståelsen av patogenesen vid infektioner.

Ytterligare faktorer som är värda att nämna är de problem som kan uppstå vid användning av PCR och sekvensering för att påvisa ett smittämne eller DNA-mikromatris och metabolomics för att karakterisera värdsvaren. Vid användning av dessa metoder kommer det i vissa fall att finnas en osäkerhet kring vilken den orsakande mikroben är. Liknande problem är inte helt okända i medicinens historia, på 1980-talet hävdades exempelvis att magsår orsakades av en bakterie. Även om bakterien kunde ses i mikroskop ville de flesta forskare inte acceptera att den var en direkt orsak till sjukdomen. En australisk forskare som ansåg att *Helicobacter* var en direkt orsak, infekterade därför sig själv med bakterien. Han utvecklade då magsår och när han behandlades mot infektionen försvann magsåret. Därmed hade han uppfyllt det tredje postulat den tyske forskaren Robert Koch uppställde på 1800-talet, nämligen att för att kopplingen mellan en bakterie och en infektion skulle anses vara bevisad ska inokulering av den isolerade mikroben leda till sjukdom. Detta postulat kommer inte att vara uppfyllt när de ovannämnda teknikerna används eftersom de inte leder till isoleringen av den orsakande bakterien. Det innebär att andra viktiga villkor måste vara uppfyllda, exempelvis kommer det att ställas krav på välkontrollerade epidemiologiska undersökningar. Det är vidare viktigt att samma resultat erhålls med komplementära tekniker. Alla de uppräknade teknikerna kan anses vara komplementära varför samma resultat med två eller fler tekniker kommer att vara ett viktigt bevis för ett direkt orsakssamband.

Tekniker som DNA-mikromatriser och metabolomics kommer sannolikt att kräva en relativt lång tid (>15 år) innan de kommer att användas rutinmässigt i sjukvården. Mer kortsiktigt (5-10 år) kommer vi förmodligen att se utveckling av existerande tekniker. Ett exempel är att tekniker miniaturiseras och på detta vis kan förbilligas men också att de kan göras mera komplexa då många steg i det laborativa förfarandet kan automatiseras. Idag strävas det ofta efter förenklingar i biokemiska analyser då de är arbetskrävande och kostsamma. En miniaturisering kommer att innebära att även rutinlaboratorier kommer att kunna göra mer komplicerade analyser och därigenom öka den diagnostiska precisionen. En allmän automatisering av t.ex. provpreparation kommer också att kunna öka kapaciteten på laboratorierna. Det är dock värt att nämna att normalt innebär en sådan automatisering en fördyring av provhanteringen varför många arbetsmoment fortfarande görs manuellt på mikrobiologiska rutinlaboratorier trots att teknikerna för automatisering redan finns.

Inom det molekylärbiologiska området sker en fortlöpande utveckling. En teknik som idag håller på att introduceras är snabba kvantitativa molekylära analyser, så kallad real-time-PCR. Detta kan ge betydelsefull information i många sammanhang. En uppenbar sådan är att totalantalet mikrober spelar roll, d.v.s. ju fler mikrober desto sämre prognos. HIV-infektion är ett fall där en sådan kvantifiering är absolut nödvändig. Hos dessa patienter innebär behandling inte att viruset försvinner helt men att nivåerna sjunker och de är därför måttet på behandlingseffekten. Det finns även andra sjukdomstillstånd där patienter bär på mikrober som kan vara sjukdomsframkallande

utan att de är sjuka. Därför måste en kvantitativ analys göras för att i dessa fall kunna avgöra om det är fråga om bärarskap eller infektion. Exempel är infektioner i luftvägarna.

5.2 Farmakogenomik

Ann Göransson Nyberg

Bakgrund

Läran om hur läkemedlens effekter påverkas av ärftliga faktorer är en ny vetenskap som kommer att ha en stor betydelse vid utveckling och klinisk användning av mediciner. Genetisk karaktär påverkar biokemiska faktorer och som en konsekvens av detta svarar individer som skiljer sig i genetisk uppsättning olika på samma medicinska behandling. De kan ha olika förmåga att absorbera medicinen eller kanske saknar de ett viktigt enzym för att metabolisera (omsätta) läkemedlet. Normala doser kan då leda till oväntade låga eller höga koncentrationer av läkemedlet i blodet. Detta kan i sin tur ge en ineffektiv behandling, exempelvis svarar inte 20 % av befolkningen på blodtryckssänkande medicin, eller svåra biverkningar. Ett annat exempel är att personer som har onormalt mycket receptorer för ett visst läkemedel kan få svåra biverkningar vid normal dos. Dessa variationer är mycket kritiska för läkemedel med smala terapeutiskt fönster.

Framtida möjligheter för optimal behandling

Idag tas liten hänsyn till farmakogenomik, varför det ofta blir feldoseringar med biverkningar som följd. I framtiden kommer information om den genetiska uppsättningen att användas för att nå bästa möjliga behandlingsstrategi. Diagnostiska kit är under utveckling för att farmakogenetiska faktorer ska kunna bestämmas i en patient. Därigenom blir det möjligt att enkelt bestämma patientens svar på en speciell medicin. Exempelvis skulle avskrap från tunga kunna används för diagnos istället för blod eller urin. Efter ett sådant test kan bästa möjliga läkemedel och dos väljas för den enskilda patienten. Slutmålet ska vara att komma fram till en individualiserad terapi.

Det finns redan diagnostiska kit med vars hjälp arvsanlagen kan analyseras. Utifrån dessa analyser kan sannolikheten för att en patient drabbas av en speciell sjukdom förutsägas. En ökad tillgång av sådana kit kommer att ske inom en 5-årsperiod. Dessa kit kommer även att kunna ge information till enskilda individer om hur man ska leva sitt liv för att undvika att sjukdom utbryter, t.ex. avstå från rökning.

Inom industrin finns "genome chip" (DNA-mikromatriser) för att detektera upp till 10 000 olika arvsanlag. I framtiden kommer dessa troligen att finnas som enkla DNA-chip vilka kan köpas på apotek. Chip som detekterar proteiner är också ett önskemål, men utvecklingen av dessa har inte nått lika långt.

Idag är vi på väg att få tillgång till genetiska profiler bestående av vad som kallas snips (single nucleotide polymorphisms, SNP) (se kapitel 2.1), som kommer att göra det möjligt för läkaren att förutsäga patientens reaktion på ett läkemedel, och därigenom avgöra om han ska ge läkemedlet eller ej, och den exakta dosen. Parallellt öppnas möjligheten att tillverka och administrera individuellt anpassade läkemedel. Detta innebär stora fördelar, för det första vad gäller terapeutiskt svar och minskat lidande, och för det andra i fråga om ekonomin, både under läkemedlets utvecklings-

fas (där protokollen för farmakologisk prövning kommer att förändras i mycket hög grad i och med att dessa profiler utvecklas), och under administrationsfasen genom att man undviker att ge läkemedel till patienter som inte behöver dem, eller till och med kan skadas av dem. Det är inte fråga om någon möjlighet i en avlägsen framtid – det finns redan idag ett konsortium med läkemedelsföretag, universitetscentra och privata stiftelser som är i färd med att sammanställa en databank som ska vara tillgänglig för alla via Internet och innehåller cirka 200 000 snips, och som inom loppet av två år kommer att ha cirka 800 000 st. Man förutspår att inom 10-20 år kommer detta att leda till en effektivare behandling av cancer och kanske botemedel för vissa ärftliga sjukdomar.

Farmakogenomik kommer att öppna vägarna för utveckling av ny medicin och farmakogenetik anses få ett tungt inflytande över den medicinska behandlingsstrategin i framtiden. Den ökar potentialen för målinriktade mediciner att bli mer effektiva, förbättrar patientens möjligheter till behandling, minskar bieffekter och är kostnads-effektiv. Samverkan mellan utveckling av genterapi, gendiagnostik och nya läkemedel kommer att göra det möjligt att identifiera de patienter som är i mest behov av behandling och som når bästa effekten av behandling.

I ett längre perspektiv kan kunskap inom farmakogenetik ge helt nya möjligheter att utifrån individens genetiska förutsättningar anpassa dess levnadsvillkor. För totalförsvaret kan man tänka sig att i framtiden utforma tester för att genetiskt kartlägga en individs motståndskraft för olika ämnen. Detta skulle vara till stor hjälp för att skydda individen vid t.ex. vid rekrytering inför internationella operationer där risken för kemiska exponeringar av olika slag är stor.

5.3 Behandling av infektioner

Urban Kumlin

Bakgrund

Infektioner har i Sverige varit den huvudsakliga dödorsaken fram till början av 1900-talet. Globalt sett är dock infektioner fortfarande den främsta orsaken till förlorade friska levnadsår. Allt fler samband upptäcks också mellan infektioner och andra sjukdomar, exempelvis är bakterien *Helicobacter pylori* en idag erkänd bidragande faktor till magsår och magcancer. Den ökade kunskapen om smittämnen, smittkällor och smittvägar samt förbättrad hygien, näringsintag och standard har minskat infektionsrelaterad död. Ökad vaccination och tillkomst av nya och effektiva läkemedel har förstärkt denna trend.

Ökande omfattning av svåra infektioner är dock att vänta bl.a. p.g.a. att allt fler människor får nedsatt immunförsvar och därmed återkommande infektioner. Till försämringen av immunförsvaret bidrar ökat användande av cytostatika och transplantationer samt HIV-pandemin. Behandlingar för cancer, avstötning och HIV är dock under förbättring.

Framgångar med antibiotika och antivirala medel hotas nu av tilltagande resistens hos bakterier och virus. Resistensmekanismerna ökar i antal och omfattning mycket p.g.a. olämplig användning av antibiotika både hos djur och människor, men även p.g.a. det ökande antalet människor med nedsatt immunförsvar. Med förbättrad diagnostik och övervakning av infektioner och med mer restriktiv antibiotikabehandling hoppas man

att resistensutvecklingen kan bromsas. Via inträdet i EU har vi dock fått minskade möjligheter att bestämma nationella indikationer för läkemedelsanvändning anpassad till det svenska infektionspanoramats. Samtidigt har intresset för omvärldens antibiotikapolicy ökat.

Tilltagande omfattning av nedsatt immunförsvar och antibiotikaresistens ökar efterfrågan på nya principer för infektionsbehandling. Den ökande kunskapen inom det mikrobiologiska området ger en mångfald av hypoteser om nya behandlingsvägar. För de närmaste 15 åren kan man dock förvänta sig att infektionsbehandling i stort väsentligen kommer att ske med dagens läkemedel, innefattande variationer av dessa. Endast ett fåtal antibakteriella medel som bygger på nya verkningsmekanismer har godkänts under senare år. Däremot är antalet nya antivirala behandlingsprinciper under stark tillväxt, men jämfört med antibakteriella medel är volymen fortfarande blygsam.

Antivirala medel

Virus kan enbart föröka sig i celler. Detta sker genom omprogrammering av cellens syntesmaskineri (jämför med bakterier som förökar sig via delning). Att försöka förhindra tillväxt av virus medför ofta stor risk för att toxiska effekter på människans celler uppstår. Under slutet av 1900-talet har dock flera antivirala medel utvecklats. Idag finns drygt 30 olika medel godkända, flertalet för HIV, men några mot framför allt herpesgruppens virus, hepatit och influensa.

Influensa orsakar direkt eller indirekt sannolikt några tusen dödsfall i Sverige per år. Vid en ny influensapandemi (global influensaepidemi) smittas i regel mer än hälften av jordens befolkning och miljontals dödsfall uppstår. Huvudsakliga strategier för prevention och behandling är vaccinering, antibiotika vid sekundär lunginflammation, samt understöd av cirkulation och andning. Antiviral behandling och förebyggande åtgärder kommer sannolikt att öka starkt de närmaste åren. Sedan ett par år finns två läkemedel (neuraminidashämmarna zanamivir och oseltamivir) som effektivt hämmar tillväxt av influensavirus utan större risk för svåra biverkningar. Dessa substanser blockerar det virala enzymet neuraminidas. Neuraminidas klyver bindningen mellan utskott på influensavirus (hemagglutinin) och receptorer på cellytan. Läkemedlen orsakar att frisläppning av virus från celler hämmas och sannolikt även upptag. Sedan flera år finns ytterligare två antivirala medel, amantadin (hämmar avklädningsfasen av viruspartiklarna strax efter inträdet i cellen) och ribavirin (hämmar tillverkningen av främst viral arvs massa), med effekt på influensa. Dessa har dock haft en begränsad användning främst p.g.a. biverkningsrisker.

Trots dessa framsteg föreligger stor risk att nästa influensapandemi kan orsaka hög dödlighet. Vid epidemin av "fågelinfluensa" i Hong Kong 1997 dog 6 av 18 patienter. Som tur var förekom ingen eller obetydlig smitta mellan människor. Influensavirus har dock en förmåga att snabbt förändra sig och risk finns att en influensavariant som "fågelinfluensan" med hög dödlighet kan ta upp egenskaper från en mänsklig influensavariant och därmed få en ökad benägenhet att spridas mellan människor. Inför nästa pandemi vore det därför av stort värde om influensavaccin skulle kunna framställas så att bredare effekt och/eller snabbare produktion möjliggörs. DNA-vaccin kan eventuellt vara en framkomlig väg för detta (se kapitel 4.1). Lagerhållning av antivirala medel inför nästa pandemi är ett alternativ att allvarligt överväga.

Även för en rad andra virus finns antivirala medel med mer eller mindre god effekt. Det antivirala medlet Ribavirin har också visat sig ha en viss effekt, förutom mot

influenza, mot infektioner orsakade av en lång rad andra virus, inkluderande para-influenza, respiratory syncytical virus, adenovirus, hepatit C (se nedan) och blödarfebrar. Effekten på lassafeber och andra arenaviroser rapporteras vara god, medan effekt på andra blödarfebrar orsakade av exempelvis ebolavirus och hantavirus tycks vara svag. Ribavirin hämmar förökning av virus på flera olika sätt men den huvudsakliga verkningsmekanismen är inte klarlagd. Ribavirinliknande medel med bättre antiviral effekt och färre biverkningar är under utveckling

Sedan cirka 20 år har det funnits ett antiviralt medel, aciklovir, med god effekt mot herpes simplex virus. Aciklovir är en nukleosidanalogue som efter modifiering, vilket enbart sker i virusinfekterade celler, av ett herpesspecifikt enzym, byggs in i virusets arvsmassa och avbryter fortsatt DNA-syntes. Liknande läkemedel, ganciklovir, foscarnet och cidofovir, som dock har större risk för biverkningar, finns för behandling av framför allt cytomegalovirus. Cidofovir har dessutom antiviral effekt på många andra DNA-virus. Försök på cellkulturer, samt effekt på liknande virusinfektioner talar för att cidofovir har god effekt även på smittkoppor. En modifiering av substansen som även kan ges oralt har nyligen utvecklats. För cytomegalovirusinfektioner i näthinnan (vanlig komplikation vid AIDS) finns sedan ett par år fomivirsen, det första godkända preparatet som bygger på antisens-mekanism (se nedan). Fomivirsen är en oligonukleotid med 21 baspar som kan binda till en cytomegalovirus-specifik sekvens på budbärar-RNA och som förhindrar syntes av virusprotein.

En lång rad olika antivirala medel har utvecklats för HIV. Redan på 1980-talet kom nukleosidanalogue (t.ex. retrovir) som hämmar det för retrovirus nödvändiga steget då RNA översätts till DNA. Medel som hämmar anpassning av virusproteiner efter proteinsyntes tillkom på 1990-talet (t.ex. indinavir). Genom att kombinera antivirala medel med olika verkningsmekanism kan man i bästa fall nedbringa virusmängden i plasma mot noll och därmed skjuta upp utvecklingen till AIDS. Problem som frekvent resistensutveckling samt global orättvisa i behandlingsmöjligheter föreligger dock i väntan på ett effektivt vaccin.

Ett helt annat sätt att behandla virusinfektioner är att styra kroppens immunförsvar till att effektivare eliminera virus. Denna form av behandling benämns immunomodulering. För behandling av kronisk hepatit B och C tillämpas immunmodulerande behandling med alfa-interferon. Vid kronisk hepatit C sker utläkning för betydligt mer än hälften av kroniska bärare om alfa-interferon kombineras med det antivirala medlet ribavirin. Även några HIV-medel kan användas mot hepatit B. Utmärkta vacciner finns också för hepatit B. Sverige tillhör ett av de få länder som dock inte låter dessa vacciner ingå i barnvaccinationsprogrammet.

Antibakteriella medel

1928 upptäckte Alexander Fleming att mögelsvampen *Penicillium notatum* hade bakteriehämmande effekt. Under 1940-talet utvecklades denna tursamma men värdefulla upptäckt av penicillin till behandling av bakteriella infektioner. Under de närmaste årtiondena utvecklades flera andra olika hämmare av bakteriers cellväggsyntes, t.ex. glykopeptider och cefalosporiner. Redan på 1930-talet startade utvecklingen av sulfonamider som hämmar bakteriers folsyrametabolism och därmed bildandet av vissa nukleotider (DNA-byggstenar) och aminosyror (protein-byggstenar). Kloramfenikol, makrolider, tetracykliner och aminoglykosider interfererar med bakteriernas proteinsyntes, utvecklades främst på 1950- och 1960-talen. Exempel på hämmare av bakteriell nukleinsyrasyntes via interaktion med enzymet DNA-gyras

är kinoloner (utvecklades under 1960-talet) och fluorokinoloner (från 1980-talet). De medel som har tillkommit därefter bygger väsentligen på liknande verkningsmekanismer. Linezolid tillhör klassen oxazolidinonerna och hämmar bakteriell proteinsyntes. De har beskrivits som den strukturellt första nya klass av antibiotika som utvecklats på över 30 år.

De antibakteriella medlen har medfört stora framgångar i behandling vid spontana infektioner, intensivvård, avancerad kirurgi, tung cytostatikabehandling, etc. Antibiotikaresistenta bakterier utgör dock ett växande hot som manar till förståndigare bruk av existerande läkemedel och utveckling av medel med nya verkningsmekanismer. Vancomycin (glykopeptid) har sedan årtal använts som sista utpost vid multiresistenta infektioner av grampositiva bakterier. Sedan några år finns dock vancomycinresistenta enterokocker och sedan 2002 även ett par vancomycinresistenta isolat av *Staphylococcus aureus*. Denna utveckling är mycket hotfull. Nyligen har linezolid (se ovan) och quinupristin-dalfopristin (streptogramin som hämmar bakteriers proteinsyntes) tillkommit i terapiarsenalen främst avsedda att användas vid multiresistenta grampositiva infektioner. Men även dessa har redan, om än i diskret omfattning, drabbats av resistensmekanismer.

Förutsättningar för utveckling av ny infektionsbehandling

Upptäckter av antibakteriella medel har tidigare ofta inträffat via screening av naturligt förekommande aktiva substanser hos bl.a. svampar och bakterier. För antivirala medel är amantadin ett av få lyckade exempel på denna strategi. Detta medel, som även har effekt på Parkinsons sjukdom, godkändes redan på 1960-talet för behandling av influensa A men det var först på 1990-talet som verkningsmekanismen blev känd. Kunskapen om hur smittämnen förökar sig och interagerar med celler, djur och människor är under kraftig tillväxt. Detta har lett till att man numera utgår från verkningsmekanismer i sitt letande efter nya medel. Fortfarande är det dock en mycket liten del av substanser med god effekt i provrör som klarar den långa (10 år eller längre) och dyra (ofta mer än 5 miljarder kronor) vägen till att bli godkänt läkemedel med god klinisk effekt och acceptabla biverkningar. Fram till slutet av 1999 var fluoroquinoloner den enda antibiotikaklassen som var helt syntetiskt tillverkat.

Analyser av arvsmassan går allt fortare och under de senaste åren har arvsmassan hos människan och ett stort antal smittämnen kartlagts (se kapitel 2.1). Därmed ökar möjligheterna att finna nya vägar att bekämpa smittämnen. Via mikromatris-teknik (se kapitel 3.2) är det möjligt att samtidigt titta på hur uttrycket av tusentals gener (arvsanlag) påverkas av olika betingelser. Försök som tidigare tog årtal kan nedbringas till några veckor. Med hjälp av denna teknik kan man exempelvis studera vilka gener, både hos smittämnet och värden, som uppregleras och nedregleras i samband med infektioner och infektionsbehandling. Skillnader i genuttryck mellan oinfekterade och infekterade celler eller skillnad i genuttryck mellan sjukdomsframkallande och icke sjukdomsframkallande stammar av ett smittämne ger värdefull kunskap om vilka gener och proteiner som främst är involverade under infektion. En viktig aspekt av att hela arvsanlaget hos ett smittämne är känt är att man lättare kan utreda den molekylära verkningsmekanismen för de antibiotika som vi använder idag. Därmed förbättras möjligheten att ta fram nya antimikrobiella medel mot andra mål inom samma verkningsmekanism. Genom att förstå verkningsmekanismer har man också fått en ökad möjlighet att lära mer om hur resistensutveckling sker. Kanske ännu viktigare är möjligheten att ta fram nya typer av antibiotika för vilka det idag inte finns någon känd resistensmekanism.

Infektionsbehandling med nya verkningsmekanismer

1978 publicerades ett av de första antisensexperimenten varvid korta enkelsträngade DNA-molekyler (oligonukleotider) som var komplementära (antisens) till viss sekvens i budbärar-RNA förhindrade syntes av ett virusprotein. Trots stora satsningar tog det 20 år innan ett läkemedel godkändes som byggde på denna princip att specifikt blockera enskilda gener (fomivirsen, se ovan). Med denna och liknande metoder kan man selektivt tysta uttrycket av genuttryck innan proteinsyntes sker.

En annan väg att stänga av uttrycket av vissa gener kallas för RNA interferens (RNAi). Dubbelsträngat RNA som kommer in i en cell kan klyvas av ett enzym till korta siRNA (small interfering RNA) om cirka 21-25 nukleotider. Dessa siRNA binder specifikt till motsvarande sekvens på budbärar-RNA och åstadkommer, via ett ännu ofullständigt utforskat komplex, nedbrytning av sitt mål genom hydrolyt. Denna mekanism upptäcktes för några år sedan i växter men den tycks vara allmänt förekommande i naturen inkluderande däggdjur. RNAi kan möjligen ha som naturlig funktion att mediera organutveckling eller att utgöra försvar mot mikroorganismer. RNA interferens är mycket användbar för att i stor skala och med enorma tidsvinster studera funktion av gener och hitta nya potentiella mål för läkemedelsutveckling. Men vad som lockar än mer är att utveckla läkemedel som bygger på RNA interferens. Långvarig och påtaglig avstängning av gener med RNAi har redan utförts i djurförsök. Vissa studier talar även för att inducerad RNAi kan mångfaldigas i en cell och spridas från cell till cell i en organism. Enligt nyligen publicerade experiment kan HIV inhiberas i cellodling med hjälp av siRNA riktade mot budbärar-RNA för både cellulär receptor och virala proteiner. Inom 15 år är det inte osannolikt att flera läkemedel som utgörs av siRNA och/eller reglerar RNAi kommer att finnas för infektionsbehandling (samt för cancer och andra sjukdomar). Utsikter till att konstruera läkemedel som har god selektiv effekt och få biverkningar bör vara goda. Ett inte oväsentligt problem som dock bör kunna lösas är att effektiva vektorer (t.ex. modifierade virus) sannolikt behövs för systemisk behandling och för att rikta behandlingen mot målorgan.

Att förhindra mikroorganismer att binda till celler som riskerar att utsättas för infektion borde vara en uppenbar princip för infektionsbehandling. Detta kan man sedan länge uppnå genom vaccination eller passiv tillförsel av antikroppar. Antikroppar som bildas efter vaccination och direkt tillförda specifika antikroppar kan ofta binda till ligander (utgörs ofta av utskott) på mikroorganismer och därmed försvåra bindning till cellreceptorer och även underlätta fortsatta attacker från immunförsvaret. Kunskapen om hur smittämnen ligander binder till cellreceptorer ökar och det finns många potentiella medel under utveckling till läkemedel.

Upptag i celler av höljeförsedda virus sker ofta via fusion då cellmembran och hölje sammansluter. Flera hämmare av fusionssteget är under utveckling, exempelvis T20 (pentafusid) där framgångsrika studier på HIV-infekterade patienter medger goda möjligheter till godkänt läkemedel inom 5 år. Liknande medel har visat sig kunna hämma fusionssteget för paramyxovirus där bl.a. respiratory syncytical virus, parainfluensavirus och mässlingsvirus ingår.

Antibiotikaresistenta bakterier är ett växande problem men resistensmekanismerna i sig kan bekämpas med motmedel. Betalaktamaser från ett flertal bakterier kan bryta ned penicillinpreparat så att de blir överksamma. Klavulansyra är exempel på ett redan etablerat läkemedel som hämmar dessa betalaktamaser och som ges till-

sammans med amoxicillin varvid effekt uppnås även på betalaktamasproducerande bakterier. Andra resistensmekanismer där potentiella läkemedel borde kunna utvecklas är t.ex. kapselbildning och antibiotikaefflux (bakterien pumpar aktivt ut antibiotika).

I nästan alla organismer finns peptider från 12 till 50 aminosyror som direkt kan interagera med främmande cellväggar, exempelvis från bakterier. Mer än 600 peptider är kända och ett flertal finns hos människa. Dessa peptider utgör sannolikt ett mycket viktigt och tidigt skydd mot infektioner i främst hud och slemhinnor. Läkemedel för lokalbehandling finns redan och inhalationsbehandling av vissa lunginflammationer är under utveckling. En fördel med dessa medel är att risken för resistensutveckling och allergier bör vara låg. En möjlig nackdel är att systemisk behandling troligen medför ökad risk för toxiska biverkningar.

Antibiotika är inte en tillräcklig faktor för utläkning av infektioner. Den avgörande faktorn utgörs av vårt immunförsvar. Vaccinationer, tillförsel av immunglobuliner och interferoner är kända exempel på att stärka immunförsvaret vid förebyggande och läkande infektionsbehandling. Därutöver finns en mängd substanser som kan modulera immunförsvaret. Ofta utgörs de av allehanda cytokiner, små signalerande proteiner som reglerar kommunikationen inom och utom immunsystemet. Med hjälp av cytokiner eller antagonister till cytokiner kan immunförsvaret ombalanseras, exempelvis till att stärka det s.k. cellmedierade immunförsvaret vilket är viktigt vid många intracellulära infektioner. Försök pågår redan för HIV och andra kroniska infektioner.

Att i det akuta infektionsförloppet modulera immunförsvaret borde kunna ge framgång framför allt vid sepsis (blodförgiftning). Sepsis är ett allt vanligare kliniskt syndrom med hög dödlighet som oftast orsakas av en överaktiv inflammationskaskad (som kan följas av en underaktiv fas) som svar på en svår infektion. Den grundläggande behandlingen utgörs av intensiv vård med tung antibiotikabehandling och upprätthållande av respiration och cirkulation. En lång rad olika medel, oftast för att dämpa den proinflammatoriska fasen, har sedan flera år prövats utan påtaglig framgång trots att medlen i regel har gett ökad överlevnad i djurförsök (t.ex. anti-TNF). För att nå framgång i fortsatta studier bör man sannolikt förbättra möjligheterna att avläsa adekvata delar av immunförsvaret utan större tidsfördröjning så att immunmodulering kan ske med lämpliga medel, i anpassad dos och vid rätt tillfälle.

Slutord

Under slutet av 1900-talet har många invaggats i uppfattningen att infektioner har blivit en ovanlig orsak till svår sjukdom och död. Kvar står dock att infektioner är jordens dominerande sjukdomsorsak och trots antibiotika och vacciner finns risken att infektionsrelaterad sjukdom ökar i omfattning. HIV-epidemin, tuberkulos och multi-resistenta mikroorganismer är i tilltagande. En mängd smittämnen finns hos djur som kan anpassa sig till spridning mellan människor och då orsaka pandemier av influensa och andra epidemier. Galna ko-sjukans aktuella spridning till människa kanske bara utgör en liten föraning om storleken på den epidemi som denna prionsjukdom kan åstadkomma efter sin mycket långa inkubationstid. Vi har dock goda chanser att möta dessa hot. Med naturvetenskapens kraftiga utveckling och bioteknikens möjligheter pågår en explosion i kunskaper även om hur smittämnen interagerar med människan och hur infektioner kan botas.

5.4 Bioteknik och kemiska exponeringar

Anders Bucht

Bakgrund

Akut lungskada är ett samlingsbegrepp för livshotande skador i lungan som kan uppstå vid inandning av starkt toxiska ämnen, men även andningskomplikationer efter svåra kroppsliga trauman, Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS), innefattas i begreppet. ARDS är ett syndrom som kan utvecklas ett par dygn efter akut trauma hos patienter med svåra brännskador, sprängskador, blödningschock, blodförgiftningar (sepsis) eller omfattande frätskador av kemikalier. Akut lungskada är sannolikt den allvarligaste medicinska konsekvensen i flera tänkbara katastrofsituationer där kemiska vapen sprids över stora befolkningsgrupper eller vid omfattande utsläpp av giftiga industrikemikalier. Exempel på sådana händelser i historien är spridning av välkända kemiska stridsmedel som senapsgas och Bhopal-giftet metylisocyanat, som vid en kemisk olycka 1984 förorsakade allvarliga lungskador på ca 50 000 människor, varav 2250 med dödlig utgång. Trots maximala vårdinsatser vid omhändertagande av patienter med akut lungskada är dödligheten i denna patientgrupp än idag omfattande. Under senare år har landvinningar inom biomedicinsk vetenskap alltmer tillämpats i syfte att hitta nya angreppspunkter för medicinsk behandling. Framsteg inom detta område kommer att ha betydelse inom såväl civil intensivvård som Försvarmaktens sjukvård.

Aktuella tillämpningar

I dagens medicinska behandling av akut lungskada inriktar man sig på att lindra symtom genom tillförsel av syrgas och läkemedel som utvidgar andningsvägarna, samt med preparat som lindrar hosta och smärta. Därutöver ger man ofta antibiotika för att förhindra följdinfektioner och det förekommer även behandling med anti-inflammatoriska preparat för att dämpa den inflammation som ofta är associerad med vävnadsskadan (främst kortisonliknande steroider). De senaste årens molekylärbio-logiska forskning har gett alltmer detaljerad kunskap om de cellulära och molekylära mekanismer som initierar och driver den inflammatoriska process som i många fall är destruktiv för lungorna. Detta har resulterat i ett flertal nya behandlingskoncept som prövats i djurförsök och i några fall har initiala framgångar lett till fortsatt prövning på människa. Bland dessa bör speciellt nämnas biotekniskt framställda produkter som specifikt kan inhibera de kaskadliknande reaktioner som leder till ett inflammatoriskt svar. Lovande försök på djur med sådana preparat (som främst blockerar tumor necrosis factor- α och interleukin-1) har emellertid inte visat sig framgångsrika i efterföljande kliniska försök på människa. Den genomgående erfarenheten från dessa prövningar är att mer kunskap om mekanismer vid utveckling av cell- och vävnadsskada är nödvändig för att kunna avgöra huruvida sådan intervention är en framkomlig väg för medicinska insatser.

Ett alternativ till att dämpa inflammationen är att istället förhindra den skadeprocess som sker i lungvävnaden. Avsikten är att med höga doser av s.k. antioxidanter¹⁵ motverka den destruktiva effekten av de fria syreradikaler som bildas vid akut lungskada eller att inhibera de vävnadsnedbrytande enzymer (t.ex. elastas) som frisläpps av

¹⁵ Substans som i levande organismer hämmar bildningen eller verkningarna av potentiellt skadliga oxiderande föreningar, reaktiva syremetaboliter

inflammatoriska celler. Djurförsök och initiala provningar på människa med s.k. scavengers¹⁶ och neutrofil elastosinhibitor¹⁷ har gett lovande resultat men trots detta är det för tidigt att dra slutsatser om klinisk användbarhet.

Ytterligare en möjlighet till medicinsk behandling är att försöka återställa lungans förlorade förmåga att tillgodogöra sig kroppens behov av syre. Ett exempel på en sådan strategi är att tillföra s.k. lungsurfaktant¹⁸, en substans som normalt finns i lungan med en viktig andningsfysiologisk funktion och som kan förloras vid allvarlig lungskada. Flera studier har visat att ersättning med denna surfaktant ökar andningsförmågan hos försöksdjur med akut lungskada. Initiala försök på människa tycktes bekräfta den goda effekten, men efterföljande stora kliniska provningar har gett motstridiga resultat.

Framtida applikationer och forskning

Förutom ovan nämnda preparat, som antingen har prövats på människa eller där kliniska provningar pågår, har ett stort antal nya koncept föreslagits baserat på framgångsrika djurförsök. Bland dessa kan nämnas specifika antikroppar mot substanser som attraherar inflammatoriska celler till lungvävnad (s.k. kemotaktiska faktorer, exempelvis interleukin-8) och liposombaserad administrering av antioxidanten vitamin E som i djurförsök har visat sig både förhindra inflöde av inflammatoriska celler till lungor och skydda mot lungödem (livshotande vätskeansamling i lungor som kan uppstå bl.a. efter exponering för kemiska ämnen). Vidare pågår försök att med rekombinanta tillväxtfaktorer underlätta lungornas förmåga att reparera kemiskt framkallad skada (t.ex. keratinocyte growth factor). Dessa studier befinner sig emellertid i ett tidigt skede och mycket forskning återstår innan det kan avgöras om strategierna är framgångsrika i ett kliniskt sammanhang. Figur 9 beskriver schematiskt händelseförloppet vid lunginflammation orsakad av exponering för ett kemiskt ämne.

Svårigheterna att finna en generellt användbar behandling av akut lungskada kan illustreras av de motstridiga resultaten vid försök med steroider¹⁹. Trots att det inflammatoriska svaret anses som en starkt bidragande faktor till lungsvikt har behandling med starkt antiinflammatoriska steroidpreparat inte statistiskt förbättrat chansen till överlevnad för patienter med andningskomplikationer vid trauma (ARDS). Däremot har man konstaterat att dessa preparat har en gynnsam effekt mot fibrotisk²⁰ tillväxt i ett senare skede av sjukdomen. Anledningen till den tvetydiga effekten av steroider är oklar, och olika tänkbara orsaker har föreslagits: 1) De bakomliggande mekanismerna för utveckling av akut lungskada kan vara olika i olika patientkategorier och möjligen

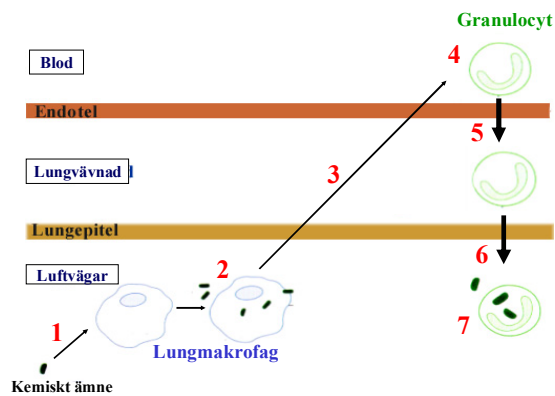
¹⁶ En substans som neutraliserar eller oskadliggör ett toxiskt ämne. Till exempel brukar man tala om naturliga scavengers som tar hand om skadliga fria syreradikaler

¹⁷ Enzym med förmåga att bryta ner elastin, en av beståndsdelarna i bindväv

¹⁸ Ett i kroppen bildat ytspänningsnedsättande ämne

¹⁹ En grupp hormonsubstanser med stor biologisk och medicinsk betydelse

²⁰ Omvandling till bindväv, vilket kan innebära att den ursprungliga vävnaden ersätts med stel och fysiologiskt inaktiv vävnad



Figur 9. Schematisk illustration av händelseförloppet vid kemiskt inducerad lunginflammation

1. Vid inandning tas det kemiska ämnet upp av vita blodkroppar (lungmakrofager) i lungornas luftvägar.
2. Makrofagerna svarar på den kemiska retningen och börjar utsöndra signalämnen, s.k. cytokiner, som aktiverar immunsystemet.
3. Cytokiner påverkar celler i blodkärl (endotel) och vita blodkroppar i blodcirkulationen.
4. Genom uttryck av specifika receptorer på cellytan fastnar vita blodkroppar på blodkärlens väggar (främst granulocyter).
5. Granulocyterna passerar blodkärlen och infiltrerar lungvävnaden. Därmed har en inflammation uppstått.
6. Cellerna i lungornas yttersta barriär (epitelet) passeras och en ansamling av vita blodkroppar sker i luftvägarna.
7. Inflammatoriska celler i lungor och luftvägar kan utsöndra substanser med förmåga att förstöra vävnaden, exempelvis fria syreradikaler och enzymer. Detta kan leda till skador på lungor och nedsatt andningsfunktion.

kan inflammationen vara av liten betydelse för skadeprocessen i vissa patientgrupper eller t.o.m. i vissa fall vara gynnsam för återhämtning. 2) Patientgrupper med svåra trauman riskerar att få följdinfektioner och i vissa fall är svåra bakterieinfektioner (blodförgiftning) den direkta orsaken till ARDS. Att i dessa patientgrupper administrera starka antiinflammatoriska preparat med försvagande effekt på immunförsvaret kan innebära negativa konsekvenser för patientens förmåga att klara den livshotande infektionen. 3) Patientens ärftliga förutsättningar kan påverka resultatet av behandlingen. För att kunna klargöra dessa hypoteser kommer den framtida forskningen att fokuseras på att beskriva mekanismer för vävnadsskada och verkningsmekanismer av läkemedel på molekylär nivå, skapa underlag för mer precis definiering av patientkategorier vid akut lungskada, samt klarlägga samspelet mellan exponering av kemiska ämnen och individens ärftliga benägenhet att drabbas av lungskada orsakad av trauma eller exponering för kemiska ämnen.

Framsteg inom bioteknik och molekylärbiologi kommer att ha en avgörande betydelse för kartläggningen av det intrikata samspel mellan celler och molekyler som uppstår i samband med individens svar på kemisk exponering. Detaljerad kunskap om signalvägar och aktiveringsmekanismer inuti celler kommer att ge uppslag till nya angreppspunkter för specifik blockering av destruktivt cellsvär. Flera sådana koncept har presenterats, bl.a. blockering av en s.k. ”toll-like receptor” (en typ av cellytemolekyl som är inblandad i cellers svar på stress) och en signaltransduktionsmolekyl som kontrollerar det inflammatoriska svaret (NF- κ B). Ett flertal ytterligare idéer kommer säkerligen att presenteras under de kommande åren.

Den snabba utvecklingen inom molekylär genetik har gett helt nya förutsättningar att studera genetiska faktors betydelse för utveckling av sjukdomar och har öppnat möjligheter att bearbeta frågeställningar om individens olika svar på läkemedelsbehandling (se kapitel 2.1 och 5.2). Omfattande genetiska försök i djurmodeller tyder

på att sjukdomar som ledgångsreumatism, MS och diabetes delvis kontrolleras av individens genetiska uppsättning. Dessa djurförsök har bekräftats i studier på människa, dock utan att man ännu kunnat identifiera exakt de gener som kontrollerar sjukdomarna. Under senare tid har djurförsök visat att även skador som uppstår vid kemiska exponeringar påverkas av genetiska faktorer. Dessa inledande experiment kommer under de närmaste åren att följas upp av mer detaljerade molekylärgenetiska studier i syfte att identifiera de gener som påverkar individens benägenhet att utveckla akut lungskada. Detta kommer att ge viktig information om hur känslighet för exponering av kemiska ämnen kan variera mellan individer och dessutom ge en mer exakt kunskap om kritiska skademekanismer på molekylär nivå.

Utveckling på 5 och 10 års sikt

På 5 års sikt kommer flera nya biotekniskt framställda preparat för behandling av akut lungskada att vara prövade i kliniska studier. Förhoppningsvis kommer åtminstone någon av strategierna att ha gett så goda resultat att förbättrad behandling av patienter är att vänta på sikt. Samtidigt kan vi förvänta oss att molekylärbiologisk och cellbiologisk forskning gett ny kunskap om cellulära svarsmekanismer vid kemiska exponeringar. Den kunskapen kan sedan användas för att identifiera nya strategier för medicinsk behandling. Vidare kommer vi att bättre förstå det inflammatoriska svarets roll för skadeprocessen och därmed ha möjlighet att på ett mer förutsägbart och rationellt sätt behandla patienter med anti-inflammatoriska läkemedel eller annan immunterapi. Den genetiskt inriktade forskningen kommer att ha klarat ut i vilken mån arftliga faktorer påverkar benägenheten att utveckla lungsjukdom i samband med kemiska exponeringar eller trauman. Däremot är det osäkert om den forskningen kommit till en så detaljerad molekylär nivå att kritiska gener har identifierats.

På 10 års sikt kan vi förvänta oss att effektivare metoder finns tillgängliga för behandling, framför allt i kategorin patienter med ARDS. Således finns goda förhoppningar att förbättra chansen till överlevnad för människor med detta livshotande syndrom. Möjligen kan sådana nya behandlingsstrategier vara tillämpliga även för patientkategorier som drabbats av kemiska exponeringar. Inom molekylär genetik och funktionsgenomik har sannolikt forskningen nått en så detaljerad nivå att enskilda gener som påverkar sjukdomsutveckling har identifierats. Detta kommer att ge dramatiskt förbättrad kunskap om de mekanismer som ligger bakom skadeprocessen. I ett ännu längre perspektiv kan denna kunskap ge helt nya möjligheter att utifrån individens genetiska förutsättningar anpassa medicinska insatser. En mer spekulativ möjlighet är att i framtiden utforma genetiska tester för att gallra bort känsliga individer, t.ex. vid rekrytering inför internationella operationer där risken för kemiska exponeringar är stor.

5.5 Bioteknik och traumatiska kroppsskador

Thomas Kjellström och Anders Sondén

Bakgrund

Ansatser att använda tillämpningar inom bioteknik för att förbättra omhändertagande av patienter med svåra kroppsskador (trauman) finns sedan ett par decennier tillbaka. Den idag helt etablerade tekniken att odla celler medförde att man i början av 1990-talet började behandla brännskador med odlade hudtransplantat. Patientens egen hud

odlades således i cellodlingsskålar under pågående sjukhusvistelse och användes sedan för att täcka stora delar av brännskadan. Tekniken, som idag är klinisk praxis, har medfört att man klarar tidigare dödliga tredje till fjärde gradens brännskador. Även om denna odlade hud sällan är av sådan kvalitet att den blir permanent, är den likväl livräddande i väntan på hudtransplantation. (Fullhudstransplantation används inte i dessa sammanhang utan snarare delhudstransplantation där man med en s.k. dermatom hyvlar av mycket tunna sjok av patientens kvarvarande hud för att täcka defekterna). Behandling av sårskador beskrivs vidare i kapitel 5.6.

Aktuella tillämpningar

Som exempel på hur biotekniken används inom traumatologin kan nämnas försök att med tillförsel av tillväxtfaktorer i kombination med olika implantat förbättra nybildning av benvävnad vid frakturläkning. Liknande metoder eller s.k. ”tissue engineering” har även framgångsrikt använts för att återskapa skadade och avlägsnade menisker i knäleden på patienter. Meniskimplantat framställs av kollagen och förs sedan in i knäleden där det tjänar som bas för vävnadsinväxt och bildning av en ny menisk. Ett annat koncept är tillförsel av omogna celler (förstadieceller) för att stimulera broskbildning vid skador på ledbrösket. Förstadieceller kan utgöra en multipotent cellresurs i skadad vävnad inför läkningen, även av vävnader som normalt anses svårläkta, som t.ex. senor och ledband.

Tissue engineering har också använts i försök att reparera skador på perifera nerver. Nervlimning som alternativ till kirurgisk söm har studerats liksom syntetiska nervguidningskanaler i kombination med tillförsel av olika nervläkningsfaktorer, då för att överbrygga längre defekter i en skadad nerv (se kapitel 5.7 om traumatiska nervskador). Likaså har tissue engineering kommit till användning, åtminstone experimentellt, för att skapa stents (gjutformar) av egen vävnad för användning inom urologisk kirurgi vid skador på urinledare och urinrör.

Genteknologins landvinningar har också kommit till användning inom traumatologin. Sålunda har genmodifierade, odlade fibroblaster använts experimentellt för att förbättra sårhäkning. Även om det ligger vid sidan om traumatologin, kan här nämnas att konstgjorda celler innehållande genetiskt modifierade mikroorganismer har använts för att behandla såväl uremi (urin förgiftning) som diabetes hos försöksdjur.

Framtida applikationer och forskning

Utveckling av nya läkemedel, t.ex. tillväxtfaktorer, för att förbättra och påskynda läkningen av olika typer av trauman kan i den framtida försvarssjukvården vara en önskvärd utveckling. Framtidens soldater kommer att vara svårersättliga, högt utbildade specialister, och med de snabba förlopp som det framtida kriget kan tänkas få, kan en förkortad konvalescens vara av värde. Nedan följer några exempel på forskning och utveckling inom biotekniken som kan leda till förbättringar vid omhändertagande av traumapatienter:

1. Konstgjort blod

Längst har utvecklingen kanske hunnit gällande artificiella, syrebärande plasmaexpanders, s.k. ”konstgjort blod”. Flera varianter, som bygger på naturligt hemoglobin eller på perfluorokarboner, genomgår i nuläget kliniska prövningar. Dessa produkter är inte bara fria från smittämnen, utan även lättare att transportera och förvara, egenskaper som inte minst gör dem attraktiva i utvecklingsländer. Blodgruppering och korstestning är heller inte nödvändig. En vidareutveckling i en nära framtid mot

kliniskt användbara produkter, inte minst i akut omhändertagande på slagfältet, kan medföra stora förbättringar för försvarssjukvården. Framtida möjligheter att genom rekombinant DNA-teknologi framställa syntetiskt hemoglobin som utgångsmaterial är i detta sammanhang av stort intresse.

2. Kärtransplantat

Bland andra bioteknikapplikationer med potentiellt intresse inom traumatologin kan även nämnas odling av kärtransplantat. På insidan av ett konstgjort kärl (t.ex. av Goretex) sås celler från blodkärlsväggen ut och på så sätt åstadkoms en inre mantelyta med bättre biokompatibla egenskaper än hos det obehandlade kärldraget. Odling av artificiella blodkärl, där kärlväggens olika cellkomponenter odlas tillsammans har nyligen börjat dra till sig ökat intresse och kan sägas vara en ytterligare vidareutveckling av ovanstående koncept, med potentiell betydelse för behandling av traumatiska kärlskador i framtiden.

3. Minskning av metabolisk aktivitet

Ett biotekniken närstående område som tilldragit sig ett ökande intresse är att inducera hibernering (minskad metabolism) hos en skadad patient i akt och mening att genom den förlångsammade metabolismen och den reducerade syrekonsumtionen skapa ett större tidsfönster för åtgärder som t.ex. transport från skadeplats till sjukhus. Hibernering kan åstadkommas genom inducerad hypotermi (sänkning av kroppstemperatur) och har *de facto* redan använts i kliniken vid behandling av skallskador och post-traumatisk lungsvikt, ARDS.

4. Diagnostiska sensorer och nya tekniker för administrering av läkemedel

Ett annat biotekniken närstående område med betydelse för sjukvårds- och sjuktransportledning i krig och krigsliknande situationer är utvecklingen av personliga diagnostiska sensorer (se också kapitel 3.1). Konceptet, som bl.a. är under utprovning av US Marine Corps, innebär att den enskilde soldaten utrustas med ett antal sensorer, t.ex. för hjärtfrekvens, blodtryck och andningsfrekvens men även för yttre mekanisk påverkan (impact sensors). Data från sensorerna telemetreras i realtid till sjukvårdsledaren, som kan initiera lämpliga åtgärder. Eventuellt kan även av sjukvårdsledaren fjärrstyrd (eller t.o.m. automatiskt initierad) administrering av läkemedel genom någon form av vidareutveckling av autoinjektorkonceptet vara tänkbar.

5. Immunoterapi

Trots intensiv forskning kring posttraumatiska inflammatoriska tillstånd som ARDS (se kapitel 5.4), systemiskt inflammatoriskt syndrom (systemic inflammatory response syndrome, SIRS) och omfattande organsvikt (multiple organ failure, MOF), är dödligheten i dessa syndrom oförändrat hög. Hopp har satts till s.k. immunoterapi, vilket i korthet innebär att neutraliserande antikroppar mot någon av de mediatorer som förmedlar inflammationen tillförs patienten (se också kapitel 5.4). Till skillnad från inflammatoriska tillstånd inom reumatologin, där immunoterapi drastiskt förbättrat sjukdomsförloppet har man i traumatologiska sammanhang ännu inte sett några entydigt positiva resultat. Forskningen inom detta område har dock på intet sätt avstannat och möjligheten att detta är en framkomlig väg finns fortfarande. I ett längre perspektiv arbetar man också med möjligheten att framställa s.k. bioartificiella organ, som under en period av organsvikt eller i väntan på transplantation, skulle kunna ersätta det skadade och icke fungerande organet.

Utveckling på 5 och 10 års sikt

Biotekniken har redan idag medfört vissa tydliga framsteg för behandlingen av trauman. Tekniken befinner sig emellertid ännu i sin linda, och sannolikt kommer fortsatt forskning att medföra betydligt större landvinningar inom såväl traumatologin som andra medicinska discipliner. Den bioteknologiska forskningens karaktär kräver emellertid ett väl utvecklat samarbete, inte bara mellan medicinare, biologer och tekniker utan även mellan akademi och industri.

De utvecklingslinjer som kan antas komma att ha stor betydelse för den framtida traumatologin torde vara:

- tissue engineering inklusive bioartificiella organ och artificiellt blod – 5 års sikt,
- hibernering inför transport/kirurgisk åtgärd t.ex. genom inducerad hypotermi - 10 års sikt,
- tillväxtfaktorer för påskyndande av läkningsförlopp vid olika skador - 10 års sikt eller längre,
- immunoterapi vid posttraumatiska inflammatoriska tillstånd - 10 års sikt,
- personliga diagnostiska sensorer - 5 års sikt.

5.6 Behandling av sårskador

Artur Schmidtchen

Bakgrund

Traditionell behandling av sår har alltid existerat parallellt med människosläktet. Egyptierna beskrev tidigt medel för behandling av olika sår. Recepten innehöll en del gemensamma substanser, såsom olika växtfibrer, fett och honung. Fiber materialet hade troligen en absorberande och stödjande roll, medan fett utgjorde en barriär mot yttre kontamination och höll inne fukten. Honung fanns i många beredningar, förmodligen p.g.a. sina antibakteriella egenskaper. Idag vet vi att honung kan fungera antibakteriellt. Galen från Pergamum (120-201 e.Kr.), som behandlade sårade gladiatorer i Pergamum, var den förste som beskrev principen om fuktig sårbehandling, något som fortfarande är huvudprincip för de flesta av dagens kompresser och sårbehandlingar. Nitton århundraden senare visade en svensk, Oscar Gilje, att kroniska sår läkte bättre i en fuktig miljö under en skyddande film. Hans data fick tyvärr inte mycket genomslag på den kliniska behandlingen. Studier under 1960-talet, där bl.a. Winter påvisade att fuktiga sår läker snabbare än sår som lämnas torra, ledde till en snabb utveckling framför allt under 1970-talet av olika förbandsmaterial baserade på polymerer (varianter av cellulosa, pektin, alginater m.m.) med olika fuktighetsbevarande och absorberande egenskaper och denna utveckling pågår fortfarande.

Ur epidemiologisk synvinkel ger olika typer av sår stora kliniska problem i Sverige. Omkring 30-40 000 personer lider av sår relaterade till olika cirkulatoriska rubbningar. De vanligaste såren, de som är relaterade till åderbråck (venösa bensår), utgör den största gruppen (~60 %), bland övriga orsaker finns bristande genomblödning (åderförkalkning) och diabetes. Denna grupp av patienter har uppmärksamats under senare år p.g.a. den höga samhällskostnaden (ca 1-2 miljarder kronor i Sverige per år), men även beroende på ett större intresse för grundläggande sår-läkningsforskning. Vår

ökade kunskap om sårläkningsprocessen på molekylär nivå, nya biotekniska landvinningar samt en ökad medvetenhet om sårproblematiken ur både klinisk och samhälls- synvinkel har också inneburit att flera bioteknikbolag och större läkemedelsföretag fokuserar på att utveckla olika sårvårdspreparat eller tekniker som kan tillämpas på patientgruppen med kroniska sår. En annan stor patientgrupp utgörs av personer med olika typer av brännskador. Man beräknar att ca 20 000 personer per år söker sjukvård i Sverige p.g.a. brännskador, varav 1500 läggs in för specialistvård. Andra sårskador är relaterade till trycksador (s.k. trycksår eller liggsår) eller olika trauman. Vid kirurgi framkallas en sårskada som med olika metoder försluts för att minimera ärr och infektion. Även här genomgår hudskadan sårläkningens alla faser.

Dagens sårbehandling

Kunskap om sårläkningsprocessen och vilka åtgärder som krävs för att uppnå sår- läkning och ett gott funktionellt och kosmetiskt resultat är nödvändig inom många olika delar av medicinen. Många olika personalkategorier inom sjukvården möter följ- aktligen sårpatienter. Akuta skador genererade i freds- eller krigstider hanteras inom kirurgin (allmän eller plastikkirurgin), medan brännskador av olika grader behandlas i egenvård, primärvård, hudklinik (vid lättare skador), eller på brännskadeavdelningar inom specialistvården (för svåra skador).

Sår har olika orsaker och behandlas beroende på orsak, lokalisering eller utbredning med olika åtgärder inom olika delar av sjukvårdsapparaten. Även om det på molekylär nivå finns skillnader i sjukdomsutvecklingen mellan olika sår, så finns det likväl många gemensamma nämnare när det gäller behandlingen.

Sår- läkning hämmas av infektion och denna gamla traditionella kunskap har under senare år kunnat verifieras i ett antal vetenskapliga studier. När det gäller kroniska sår har det exempelvis bevisats att höga bakteriedoser ($>10^6$ milj/gram vävnad) hämmar sår- läkningen och att bakterier försenar eller förhindrar inläkningen av hudtransplantat. Det är i detta sammanhang intressant att notera att många traditionella behandlingar, baserade på empirisk kunskap, delvis kan vara antibakteriella. Således noterades fält- skärer under Napoleonkrigen att soldater med infekterade sår överlevde om de fick fluglarver i såren, och larver har använts före antibiotikaeran i antibakteriellt och upp- rensande syfte. Dagens restriktiva användning av antibiotika samt uppkomsten av resistent stafylokocker har under senare år medfört att detta behandlingsalternativ har börjat testas igen i liten skala.

Hudtransplantation

Ett konkret sätt att läka sår är att täcka ett uppkommet sår med patientens egen hud (autograft) eller med hud från annan avliden individ (allograft, kadaverhud). I det första fallet tillämpas denna princip direkt vid olika former av plastikkirurgi (delhuds- eller fullhudstransplantation) där huddefekter relaterade till missbildningar, tumörer eller skador behöver täckas med hud. En annan form av direkt transplantation är s.k. pinch grafting, som framför allt tillämpas vid hudtäckning av kroniska sår. Små hud- bitar (~0,5 cm) flyttas från patientens lår till bensåret och inläkning sker efter cirka 1 vecka. Vid brännskador tillämpas i USA vid de flesta centra principen att snabbt ersätta död hud med allograft²¹. Denna främmande hud utgör dock en temporär lös-

²¹ Vävnad eller organ (t.ex. hud, hornhinna, njure) eller konstgjort material (t.ex. kärnprotes) som opereras in på en patient

ning p.g.a. avstötning inom några veckor och måste ersättas med patientens egen hud. Problem med kadaverhud (tillgång, lagring, okända virus, bakterier, svampar) vid behandlingen av stora huddefekter (som brännskador) har dock medfört att man sökt andra behandlingsalternativ.

Den snabba utvecklingen inom bioteknikområdet under det senaste årtiondet har medfört att biotekniskt tillverkad hud blivit ett attraktivt alternativ som hudersättning. Den kan användas till såväl akuta hudskador (brännskador, hudskador efter kirurgi eller trauman), som kroniska sår (venösa bensår, diabetesfotsår, trycksår, arteriella sår). Artificiell hud kan bestå av endast ett epidermalt lager (keratinocyter, överhuden eller epidermis), ett dermalt lager (innehållande kollagen och fibroblaster, läderhuden eller dermis) eller båda (ett bilaminärt lager). I tabell 4 nedan listas ett antal kommersiella produkter.

Majoriteten av de artificiella hudtyperna är testade och godkända i första hand för brännskador (USA). Studier med Apligraf på venösa bensår har påvisat en statistiskt säkerställd effekt. Många av preparaten har testats i olika multicenterstudier och pågående utveckling syftar till att vidga indikationerna för produkterna. Till exempel har AlloDerm använts med viss framgång för att täcka uppkomna hudsår efter viss tumörkirurgi i ansiktet och Apligraf har testats som hudtäckning efter operation för hudcancer.

Tabell 4. Olika kommersiellt tillgängliga hudtyper

Typ av syntetisk hud	Kommersiell produkt	Beskrivning	Användning
Odlad epidermis	Epicel (Genzyme)	Odlad autolog hud	Brännskador
Dermal ersättning	AlloDerm (LifeCell)	Behandlad kadaver hud, enbart dermis, ej celler	Brännskador
	Dermagraft (Adv Tissue Sci/Smith & Nephew (ej i USA)	Odlade fibroblaster	I kliniska studier på diabetessår
Dermis+ syntetisk epidermis	Transcyte (Adv Tissue Sci/Smith & Nephew)	Fibroblaster i ett membran (nylon+kollagen)	Brännskador
	Integra (Integra Life Sci)	Kollagen+polysackarid +silikonyta	Brännskador, rekonstruktiv kirurgi
Bilaminär hud	Apligraf (Organogenesis/ Novartis)	Epidermis (neonatal förhud)+dermis (bovint kollagen)	Venösa bensår. Kliniska studier: diabetessår, epidermolysis bullosa
	Kompositodlad hud (Ortec Int)	Keratinocyter+fibroblaster	I kliniska studier

Tillväxtfaktorer och genterapi i sårsläkning

De senaste två årtiondena har karakteriserats av en stark utveckling av vår kunskap om signalämnen som styr tillväxten av olika celler i huden. Det ledde under 1990-talet i sin tur till en optimistisk tro på att tillförsel av tillväxtfaktorer skulle lösa många sårproblem. Kliniska försök har skett med omkring dussinet olika faktorer, men bara en, Platelet derived growth factor BB (PDGF-BB, Regranex) har blivit godkänd i USA och även i Sverige för att öka sårsläkningen vid diabetessår av begränsad storlek. Även om många övriga tillväxtfaktorer visat uppmantrande resultat har den kliniska verk-

ligheten och heterogeniteten i patientmaterialet orsakat svårigheter. Problem med direkt tillförsel av tillväxtfaktorer, exempelvis kroniska sår har varit relaterade till dålig penetration och snabb nedbrytning av faktorerna samt att kroniska sår inte alltid beror på brist på tillväxtfaktorer.

Beroende på dessa svårigheter har fokus idag skiftats till genterapi. Principiellt vill forskarna tillföra genetiskt material till cellerna i såret, varvid de proteiner som detta DNA kodar för, t.ex. tillväxtfaktorer, börjar uttryckas. Detta DNA sätts in i virus (retro, adeno) eller plasmider. I vissa fall kan man använda ett direkt bombardemang av mikropartikulärt DNA (associerat med guldpartiklar) via en heliumgaspistol. Fördelen med denna "gene transfer" jämfört med topisk²² applikation av tillväxtfaktorer är att det är (a) billigare, det är lättare att tillverka större mängder av DNA, som dessutom uttrycks under några veckor i såret, än rekombinant protein och (b) effektivare p.g.a. längre halveringstid samt djupare penetration.

Många studier inom sårhäkning har hittills utförts utanför kroppen. Kliniska studier pågår för närvarande i syfte att utvärdera genterapi med PDGF-BB för kroniska venösa sår.

Framtida utveckling

Vår ökade kunskap om sårhelingsprocessen och om de molekylära avvikelserna vid kroniska sår har medfört att vi idag på ett mer riktat och effektivt sätt kan designa olika behandlingar för olika sårtyper. Den i ett historiskt perspektiv snabba utvecklingen inom bioteknik och informationsteknologi har medfört att vi börjar lära oss skraddarsy molekyler, celler och till och med vävnad som hud, för att påskynda sårhäkning. En ökande kostnadsmedvetenhet inom sjukvården har medfört att även dyra behandlingar vid kroniska sår kan ha sin plats p.g.a. sin kostnadseffektivitet. En ökande andel äldre i befolkningen kommer att leda till att förekomsten av kroniska sår ökar, vilket ställer större krav på effektiva behandlingar.

Hur ser det ut idag? Dagens behandlingar inom den stora gruppen kroniska sår är huvudsakligen baserade på traditionella principer som har varit accepterade länge, rena bakteriefria sår i lagom fuktighet läker bäst. Även om vi idag ser introduktionen av nya kompresser, har dessa väsentligen en passiv verkan. Ur omvårdnadssynvinkel förekommer det dessutom många olika sårbehandlingar, vissa ej vetenskapligt beprövade vid kroniska sår, vilket ger regionala kvalitetsskillnader i vårdkvalitet. Samtidigt utvecklas den prekliniska, experimentella sårhelingsforskningen snabbt och potentiella terapier i form av transplantation, modulering av tillväxt, vävnadsnedbrytning eller hämning av infektion kan komma att visa sig vara effektiva i kontrollerade framtida kliniska studier inom en 5-20-årsperiod. En framtida utmaning blir därför att inom en sjukvårdsapparat med begränsade resurser kunna ta till sig nya (dyra) terapikoncept och införa dem i den kliniska vardagen. Det är möjligt att vissa behandlingar, som exempelvis artificiell hud, initialt kommer att införas på specifika områden (kirurgi, brännskador) men senare överförs till området kroniska sår. Det är också troligt att venösa sår kommer att kräva andra insatser än akuta sår. Eftersom venösa sår har en kraftig vävnadsnedbrytning och höga halter bakterier kan terapier som motverkar detta vara intressanta i framtiden. Dagens forskning kring människans viktiga primära skydd mot infektioner, de antibakteriella peptiderna i huden, kan leda

²² Lokalt begränsad administrering av läkemedel, i detta fall applicering på huden

till utveckling av nya peptidbaserade läkemedel med möjliga användningsområden i kroniska sår och i akuta infekterade sår eller brännskador.

5.7 Behandling av traumatiska skador i nervsystemet

Fredrik Piehl

Bakgrund

Antibiotikabehandling och moderna intensivvårdsmetoder gör att även patienter som förlorat stora blodmängder eller som har sviktande organfunktioner kan räddas till livet. Det är mycket sämre prognos för människor som drabbas av skador i nervsystemet. Skallskador utgör ca 15 % av krigsskadorna och är den skadetyper som uppvisar högst dödlighet. I det civila samhället är skallskador en av de vanligaste orsakerna till att människor vårdas på sjukhus. I Sverige får årligen 191 av 100 000 invånare hjärnskakning. Flertalet av dessa är lindriga skador där den drabbade blir helt återställd. Allvarliga skallskador är dock den vanligaste orsaken till för tidig död hos unga män i västvärlden och traumatiska nervskador, i första hand ryggmärgsskador, är den viktigaste bakomliggande orsaken till neurologiskt funktionshandikapp hos unga vuxna. Personer som överlever svåra skallskador löper stor risk att drabbas av permanenta funktionsbortfall och kan ofta vara extremt vårdkrävande under mycket lång tid. Sammantaget är neurotrauman inte bara något som förorsakar stort lidande för den drabbade individen utan de medför också stora direkta och indirekta kostnader för samhället i stort.

Nervsystemet kan delas in i två delar; det centrala nervsystemet (CNS), som omfattar storhjärna, lillhjärna, hjärnstam och ryggmärg, och det perifera nervsystemet (PNS), som består av de nerver som agerar förbindelselänk mellan CNS och kroppens övriga vävnader. Perifera nervskador uppkommer i samband med penetrerande eller trubbigt våld, vanligen vid skador på extremiteter, vilket leder till någon typ av kontinuitetsbrott för nervfiberna. Skadan är ofta mer eller mindre total från skadeögonblicket. Skallskador utgör en mer heterogen grupp där de primära skademekanismerna vid trubbigt våld kan omfatta diffusa skador på nervtrådar, punktformiga blödningar i hjärnvävnaden (fokala kontusioner), större utrymmeskrävande blödningar i vävnaden, under eller utanför hjärnhinnorna. Till detta kommer de direkt penetrerande skadorna. Den primära skadan följs av sekundära skademekanismer som leder till att fler nervceller riskerar att dö och fler funktioner slås ut.

Aktuella tillämpningar och forskning

De senaste decenniernas forskning har genererat omfattande kunskaper om neurodegenerativa mekanismer efter nervskador, men detta har ännu inte resulterat i några påtagliga förbättringar av det kliniska omhändertagandet av hjärnskadade patienter. Nedan ges fem exempel på aktuella forskningsstrategier som syftar till att finna kliniskt användbara metoder att påverka de mekanismer som leder till celldöd i CNS:

1. *Blockering av intracellulärt kalcium* (kalciumjoner används av nervceller för att reglera aktiviteten i många enzymssystem och förhöjda nivåer har påträffats i celler som undergår s.k. programmerad celldöd).
2. *Minskning av glutamatnivåer* (glutamat är en stimulerade signalsubstans i hjärna som vid för höga nivåer kan framkalla celldöd).

3. *Hämning av fria syreradikaler* (grupp av mycket reaktiva ämnen som frigörs vid cellskada och som kan skada kringliggande vävnad).
4. *Blockering av inflammatoriska mekanismer i nervsystemet* (t.ex. har man prövat att blockera den inflammatoriska signalsubstansen TNF- α).
5. *Hämning av intracellulära signalvägar* (en heterogen grupp som omfattar t.ex. mitogen-aktiverat protein kinas, ett protein vars effekt är kopplat till inflammatorisk aktivering och induktion av programmerad celledöd).

Flertalet av de kliniska studier som har utförts har emellertid gett nedslående resultat. En av orsakerna är en överoptimism avseende möjligheterna att översätta djurexperimentella data till kliniska tillämpningar. Viktiga kunskaper har dock genererats om bl.a. studiedesign och vikten av att ha relevanta mått för terapeutiska effekter. Dessa kunskaper är viktiga för att testa konceptuellt nya hypoteser som genererats ur basforskningen. De forskningsfält där viktiga framsteg sannolikt kommer att göras det närmaste decenniet är betydelsen av genetiska faktorer för neurodegeneration, immunomodulerande behandling, tillväxtfaktorer och genterapi samt stamceller.

Forskning och tillämpningar i framtiden

1. Läkning av skador i perifera nervsystemet

Förutsättningarna för läkning av perifera nervskador är betydligt bättre än för skador i CNS. Grunden för att kunna läka en perifer nervskada är att man kirurgiskt åtminstone grovt kan reparera uppkomna kontinuitetsbrott på den skadade nerven. Detta har framför allt skett genom att använda sig av bitar av nerv från andra delar av kroppen. Kunskaperna har ökat om interaktionen mellan nervceller och s.k. Schwannska celler (stödjeceller i perifer nervvävnad) är viktig, då de senare producerar ämnen som underlättar återväxten av nervfibrer. Genom odling av Schwannska celler kan man helt komma ifrån behovet att använda nervtransplantat. Ett ytterligare steg är att utveckla helt syntetiska transplantat, där man deponerat tillväxtfrämjande faktorer, vilket skulle möjliggöra akut kirurgisk rekonstruktion och därmed optimera förutsättningarna för läkning.

2. Läkning av skador i centrala nervsystemet

Genetik

Det långsiktiga resultatet av en hjärnskada, även om den initiala skadan varit likvärdig, skiljer mellan olika individer. Orsaken till detta är delvis omgivningsfaktorer, som vi ännu har begränsad kännedom om, men även genetiska faktorer har stor betydelse. En gen som påverkar förloppet efter nervskador har påvisats, apolipoprotein(apo)E4. Bärare av genen uppvisar ett sämre utfall efter skallskada än bärare av andra varianter av samma gen. Orsaken till denna riskökning är oklar, men troligen är inflammatoriska mekanismer involverade. Intressant nog är både apoE4 och upprepade hjärnskador oberoende riskfaktorer för utveckling av Alzheimers sjukdom, vilket lett till hypoteser om att vissa av mekanismerna kan vara delade mellan demenssjukdom och risk för restsymptom efter neurotrauman. Sannolikt finns i normalbefolkningen betydligt fler genetiska faktorer som har inverkan på förloppet efter neurotrauman. Sålunda har det i djurförsök visat sig att reaktionen på en relativt enkel och standardiserbar nervskada i högsta grad påverkas av genetiska faktorer. Genom att under kontrollerade former korsa djur från olika stammar och använda sig av metoder för genkartering erhålls ett verktyg för att identifiera de gener som är viktiga för att reglera inflammation och nervcellsöd efter mekaniska skador i nerv-

systemet. En metod som utvecklats på senare år och med vars hjälp man kan studera uttrycket av tusentals olika gener, s.k. mikromatriser eller genchip, utgör ett betydelsefullt komplement till de genetiska analyserna. Gener och genprodukter som på detta sätt identifieras kommer att utgöra viktiga mål för läkemedelsutvecklingen.

Tillväxtfaktorer och genterapi

Substanser med olika tillväxtbefrämjande egenskaper, s.k. tillväxtfaktorer, används av kroppens samtliga vävnader för att styra celldelning och celldifferentiering. Nervsystemet skiljer sig i viss grad från andra vävnader i det att nybildningen av celler i den vuxna individen är extremt låg, liksom förekomsten av tillväxtfaktorer. Detta står i motsats till situationen under fosterlivet, då den embryonala utvecklingen av CNS i hög grad påverkas av tillväxtfaktorer, vilket leder till en kontrollerad expansion av olika typer av nervceller och bildandet av komplicerade neuronala nätverk. Ett mycket stort antal ämnen, bl.a. olika proteiner och peptider med effekter - i första hand på omogna nervceller - har nu identifierats. Vid skador i nervsystemet ser man ett ökat uttryck av receptorer för tillväxtstimulerande substanser på skadade nervceller och nervtrådar. Även om dessa faktorer inte kan förmå mogna nervceller att dela sig, har det visat sig att de minskar död av skadade nervceller. Ett mindre antal olika nervtillväxtfaktorer har testats i kliniska prövningar för neurodegenerativa tillstånd, men inga gynnsamma effekter har påvisats. Detta kan delvis förklaras av att det ideala administrations sättet är förhållandevis komplicerat och det sätt varmed dessa ämnen naturligt verkar inte har kunnat efterliknas. Ett attraktivt alternativ för framtiden kan vara att modifiera uttrycket av tillväxtfaktorer i nervsystemets egna celler genom genterapi. Det ger möjlighet att lokalt öka produktionen av vissa substanser med överlevnads- eller tillväxtbefrämjande effekter i syfte att minska sekundär degeneration av skadade nervceller eller att förbättra möjligheterna till att skadade nervfibrer återbildas. Denna teknik är speciellt attraktiv vid behandling av ryggmärgsskador, eftersom behandlingen skulle kunna ges i samband med det akuta operativa ingrepp som ofta görs i stabiliserande eller dekomprimerande syfte.

Immunomodulering

Autoimmuna reaktioner mot myelin kan utlösa inflammatoriska reaktioner i CNS. Ett sådant tillstånd är sjukdomen MS, som innebär att immunförsvarets celler angriper nervtrådarnas fettskidor. På längre sikt uppstår även nervskador, vars omfattning sannolikt är den parameter som bäst korrelerar till graden av neurologiskt funktionshinder. Paradoxalt nog har det visat sig att genom att stimulera en autoimmun reaktion mot myelin kan nervceller som utsatts för en mekanisk skada under vissa omständigheter räddas. Immuniseringen leder till en betydligt mer omfattande rekrytering av immunceller, däribland antigenspecifika lymfocyter, än vad som annars skulle vara fallet. Det är ännu oklart vad som gör att denna typ av immunreaktion i vissa fall är skadlig och i vissa fall utövar skyddande effekter på nervceller. En faktor som kan vara av betydelse för den skyddande effekten är att vita blodkroppar kan producera ett flertal olika nervtillväxtfaktorer. I djurmodeller har nyligen visats att normalt förekommande autoreaktiva celler har en viss skyddande effekt vid nervskada. Detta öppnar för ett mycket intressant perspektiv, där immunsystemet kan spela en aktiv roll för att begränsa skadeutbredningen vid neurotrauman. I terapeutiskt syfte kan man tänka sig immunisering eller "vaccinering" för att stärka den skyddande effekten. Planer finns på att inleda kliniska prövningar med "vaccinering" vid ryggmärgsskada, men ur både etisk och praktisk synvinkel är det viktigt att inte starta denna typ av prövningar innan mekanismerna är kända. Nyligen tvingades man att avbryta prövningar med ett "vaccin" mot Alzheimers sjukdom p.g.a. uppkomsten av ej tolererbara

biverkningar i form av inflammation i nervsystemet. Själva idén med att använda sig av ett immunsvär som behandling är dock i sig mycket elegant, då man kan utnyttja immunsystemets inneboende specificitet för att rikta terapin direkt mot det skadade området i CNS.

Nybildningsstödjande åtgärder

Efter en skada i CNS tillbakabildas nervfibrerna en bit från det ursprungliga skadestället. Där avstannar hela processen och skadade nervceller och nervtrådar kan finnas kvar årtal efter skadan. Vi börjar nu förstå varför de överlevande nervcellerna inte läker i och med att flera substanser som aktivt hämmar återväxt av skadade nervtrådar har kunnat identifieras. Detta ger möjligheter att med hjälp av modulering av de inhibitoriska substanserna lokalt i skadeområdet förbättra läkningen. Sålunda har man observerat att möss som utsatts för ryggmärgsskada och samtidigt "vaccinerats" med myelinkomponenter bildar antikroppar som blockerar dessa substanser, vilket leder till förbättrad regeneration. Andra vägar att minska förekomsten av dessa proteiner kan vara behandling med korta bitar av arvsmassa, som binder till och inaktiverar motsvarande budbärar-RNA-molekyler, alternativt utveckling av substanser som blockerar interaktionen mellan myelin och nervtråd på proteinnivå. Likartade tekniker för läkemedelsadministrering som beskrivits för tillväxtfaktorerna kan då bli aktuella.

Stamceller

Utvecklingen inom stamcellsforskningen är nu inne i en mycket intensiv fas och ofantliga resurser satsas på detta forskningsfält. Användning av stamceller för att reducera skadeverkningarna efter neurotrauman är en av de mest lovande vägarna för framtiden. Jämfört med de tidigare beskrivna teknikerna ligger detta dock långt fram i tiden, då flera stora problem först måste övervinnas (se vidare diskussion i kapitel 2.2).

Utveckling på 5 och 10 års sikt

Den starkt expanderande neurovetenskapliga forskningen har lett till en betydande ökning av vår kännedom om olika sjukdomstillstånd och skador i nervsystemet. Trots den ökade förståelsen för de mekanismer som är betydelsefulla har det ännu inte lett till kunskaper som kunnat överföras till det kliniska omhändertagandet av hjärn-skadade personer. För de kommande decennierna kan man dock förutse att detta radikalt kommer att förändras. Mycket stora forskningsresurser satsas inom vissa forskningsområden, t.ex. inom demensforskningen, och det är rimligt att tro att framsteg inom avgränsade områden av CNS-forskningen även kommer att ha en mera allmän-giltig relevans för möjligheterna att behandla andra neurologiska sjukdomar. Detta gäller både specifika läkemedel, men även generella applikationer såsom nya tekniker för att administrera läkemedel, t.ex. genterapi, eller nya behandlingstekniker, t.ex. "vaccination" eller stamceller. Det är sannolikt att effektiv behandling kommer att dröja längre för neurotrauman än för sjukdomar inom de neurodegenerativa eller neuroinflammatoriska grupperna. På kort sikt finns dock förhoppningen om att preparat i pågående kliniska prövningar, som bygger på modulation av mer vedertagna eller klassiska mekanismer, kommer att uppvisa åtminstone moderata behandlingseffekter. Under den närmaste 5-årsperioden kan man också förutse att förutsättningarna för att kliniskt kunna tillämpa de nya behandlingsstrategier som presenterats ovan närmare kommer att definieras. I den mån detta kommer att bli framgångsrikt för någon eller några strategier kommer denna fas att följas av sedvanligt arbete med klinisk prövning, så att användning i kliniskt bruk inte kan förväntas inom ytterligare en 5-10-årsperiod. Med tanke på förekomsten av hjärnskador i katastrofsituationer som krig

och massolycksfall och de långsiktiga konsekvenserna av dessa skador för drabbade individer och samhället i stort bör neurotrauman vara ett viktigt område för den medicinska försvarsforskningen.

6 Utveckling av biomaterial

Anders Lindblad

En av de, ur totalförsvarsynpunkt, mycket intressanta applikationerna av bioteknologin har varit framställning av biomaterial. Begreppet innefattar en mängd olika typer av material med synnerligen varierande användningsområden. Biomaterial för medicinska tillämpningar har beskrivits tidigare, se. kapitlen 5.5, 5.6 och 5.7. Det här kapitlet tar upp några andra exempel på material av biologiskt ursprung som nu kan framställas artificiellt och i större mängder.

Forskningen inom biomaterialområdet rör sig i ett gränsland mellan materialteknik, bioteknik, medicin, elektronik och datateknik. Det finns idag många potentiella biomaterial. I det moderna begreppet biomaterial ligger att material kan modifieras, genetiskt eller kemiskt. Ett stort intresse för biomaterial finns t.ex. inom textilindustrin. Spindelsilkets extraordinära egenskaper har många gånger framhållits som ett illustrativt exempel. Spindelsilkesfibrer kan idag produceras bl.a. i växter och bibehåller då den naturliga styrkan och elasticiteten. Problemet med att finna metoder för att framställa ett helt likvärdigt material som det spindeln spinner kvarstår dock. Totalförvarsapplikationer som diskuterats är lätta och starka kläder och skyddsmaterial, bl.a. fallskärmar och skottsäkra västar samt specialkompositer för flygindustrin. Biomaterial kan även få en framtida användning inom elektronikområdet. Ytterligare ett exempel utgör en speciell skalbagge med ett intressant yttre skal. Denna har studerats framför allt p.g.a. skalets styrka och slagtlighet. Det finns möjligheter att utveckla ett kompositmaterial som skulle kunna leda till framtagande av t.ex. lättare flygplan med en längre livslängd. Även ett snäckskal har studerats och keramikmetallaminat, framställda enligt detta skals uppbyggnad, testas.

En helt annan typ av biomaterial utgörs av kombinationen av enzym och polymerer som bl.a. kan användas i skyddskläder och vid sanering av kemiska stridsmedel. Exempelvis har återanvändbara saneringssvampar som bygger på detta koncept utvecklats. Försök pågår också för att utnyttja annan typ av material till textil för lätta och smidiga C-skyddsdräkter.

Från försvarsforskningssynpunkt bör biomaterialområdet bevakas med en medvetenhet om att mycket som lanseras som idéer idag antingen inte kommer att kunna realiserats eller har en mycket lång utvecklingstid (10 år eller längre).

Bakgrund

Mänskligheten har ända sedan förhistorisk tid utnyttjat naturmaterial för olika ändamål. Många av dessa material har ett biologiskt ursprung som trä, gummi, olika fibrer, läder osv. Under senare år har mycket forskning angående möjligheten att använda biotekniska och molekylärbiologiska metoder för att förändra egenskaperna hos några av dessa material genomförts. Samtidigt har nya tekniker gjort det möjligt att producera, hitintills svårframställda, biomaterial i större kvantiteter och till ett överkomligt pris. Merparten av de material som diskuteras är olika former av strukturella polymerer men även mer sofistikerade förslag har framförts. Mycket av forskningen om biomaterial rör olika medicinska tillämpningar (se kapitel 5), men det finns även en del arbeten som rör nya material för t.ex. kläder. I vissa fall kombineras även ett material av biologiskt ursprung med exempelvis en syntetisk polymer. I avsnittet nedan behandlas uteslutande externa material och inte sådana som kan komma att finna

tillämpningar i den mänskliga kroppen eller för t.ex. sårläkning. Avsnittet ska inte ses som en fullständig genomgång av olika biomaterial utan som en provkarta på vad dessa kan åstadkomma. Urvalet belyser också olika tekniker som används för att producera denna typ av material.

Dagens applikationer

Spindelsilke

Ett biomaterial som länge tillskrivits framtida tillämpningar som t.ex. en oerhört stark superfiber är silkestrådarna (spindelnät) som spinns av vissa spindelarter. Spindelsilke är i styrka jämförbart med kevlar (kolfiber) men uppvisar samtidigt mycket bra elastiska egenskaper. Olika spindelarter har olika typer av silke och de nätspinnande arterna kan dessutom producera flera olika sorters silke för olika ändamål. Den säkerhetslina (eng. dragline silk) som spindlar kan ses hänga i är den starkaste typen och har ca fem gånger högre draghållfasthet än stål om man tar silkets lägre densitet med i beräkningen. Vidare ”tillverkas” spindelsilket vid atmosfärstryck, i rumstemperatur och med endast vatten som lösningsmedel till skillnad mot många helsyntetiska fibrer som kräver höga tryck och temperaturer. Detta har avsevärda implikationer avseende miljö- och energifaktorer. Tänkbara framtida användningsområden för spindelsilke är som en mycket stark fiber i t.ex. kläder. Det spekuleras bl.a. i möjligheten att tillverka lätta skottsäkra material och skyddskläder. Även inom områden där mycket tunna men starka fibrer behövs, t.ex. olika mikrotekniker och inom medicinska tillämpningar, kan spindelsilke komma till användning.

Spindelsilke består av proteiner (spidroiner), där olika aminosyror dominerar olika upprepade sektioner av proteinet. Alaninrika sekvenser ger t.ex. silket dess starka mekaniska egenskaper medan glycinrika sekvenser ger silket dess elasticitet. Alanin och glycin är två olika aminosyror, d.v.s. proteinernas byggstenar.

Det är av uppenbara skäl mycket arbets- och kostnadskrävande att producera silke i större mängd enbart med hjälp av domesticerade spindlar, vilket faktiskt har försökts. Idag strävar man därför efter att överföra de gener som innehåller strukturinformation för de proteiner som bygger upp silket till andra organismer än spindlar. Försök har gjorts med att införa liknande, syntetiskt konstruerade, gener i tobaks- och potatisplantor och därigenom skapa s.k. transgena växter (se kapitel 2.5). Fördelen med att använda syntetiska gener är bl.a. att det är möjligt att ändra silkets egenskaper genom att designa om generna. Genom att ändra DNA-sekvensen i en gen kan aminosyramkompositionen i proteinet ändras och därigenom kan önskade egenskaper erhållas. Med ovan beskrivna metod har stora mängder spindelsilke producerats i tobaksblad och potatisknölar. Silket går sedan att renframställa med relativt enkla metoder (extraktion och värmebehandling). En oväntad egenskap hos detta silke är att det är relativt värmetåligt.

Även om det redan idag eller inom en snar framtid är möjligt att producera större mängder spindelsilke till en rimlig kostnad återstår problemen med att spinna proteinerna till trådar och skapa användbara material. Flera olika försök har gjorts för att åstadkomma en spunnen fiber men med relativt dåliga resultat. I en rapport från 2002 presenteras dock en metod där silkesproteinerna produceras i odlade celler från ko och hamster, s.k. cellinjer. En vattenbaserad metod används sedan för att producera silkestrådar, som uppvisar egenskaper som ligger relativt nära det naturliga spindelsilket.

Sammanfattningsvis börjar forskningen närma sig en billig storskalig produktion av spindelsilke. Ytterligare grundforskning måste utföras bl.a. för att visa hur aminosyra-kompositionen och efterbehandlingen, spinnandet, av silket påverkar dess egenskaper. Den genetiska kartan över de gener som behövs för att en spindel ska kunna tillverka silket är ännu dock bara delvis karakteriserad. Användandet av spindelsilke i nya material ligger troligen minst ett tiotal år in i framtiden.

Enzym – polymermaterial för t.ex. nervgassanering

En helt annan typ av biomaterial är den kombination av enzymer och polymerer som har visat sig kunna fungera som ett hjälpmedel vid bl.a. sanering av nervgaser. Denna typ av material är inte i sig själv nödvändigtvis av biologiskt ursprung, även om t.ex. stärkelse används som supportmaterial i vissa fall. Den aktiva substansen i dessa material utgörs dock av enzymer (proteiner) eller hela bakterieceller. Processen kan kortfattat beskrivas så att enzymerna och/eller bakterierna fästs på någon form av supportmaterial som sedan kan användas för att konstruera t.ex. ett skyddande skikt i ett klädesplagg eller en nervgasnedbrytande tvättsvamp.

De flesta organismer har flera olika grupper av enzymer som interagerar med organofosfatföreningar (OP-föreningar), t.ex. nervgaser och vissa pesticider. Enzymerna kan delas in i två huvudgrupper:

- I den ena återfinns de enzymer (t.ex. acetyl- och butyrylkolinesteras) som binder starkt till OP-föreningar.
- I den andra gruppen återfinns enzymer som hydrolyserar (bryter ner, spjälkar) OP-föreningar och brukar benämnas organofosfathydrolaser.

Med hjälp av genteknik har forskare dessutom lyckats modifiera enzymer ur den första gruppen (butyrylkolinesteras) till att förutom att binda till OP-föreningar även hydrolysera dessa. Det bör tilläggas att de olika hydrolaser som hittills använts inte är så effektiva mot nervgas som mot de simliämnen för nervgas som brukar användas i forskningen. Med hjälp av rutinmässigt använda molekylärbiologiska metoder är det idag relativt lätt att producera stora mängder av enzymerna.

Den fysiologiska rollen för många av enzymerna ur den första gruppen ovan är att delta i överföringen av nervimpulser hos högre organismer. De gör detta genom att mycket effektivt bryta ner de ämnen (signalsubstanser) som överför en nervimpuls från en cell till en annan. Ämnet som frisläpps av en nervcell binder till en receptor som sitter på ytan på nästa cell varvid nervimpulsen förs vidare. Efter överföringen bryts signalsubstansen ner av enzymerna ur grupp 1 varpå receptorn är redo att binda en ny molekyl och överföra en ny nervimpuls. En nervgasmolekyl binder på samma sätt som en signalsubstans till receptorerna men enzymet klarar inte av att bryta ner nervgasmolekylen utan denna sitter bunden till enzymet som nu är inaktiverat²³. Detta medför att en organism som utsätts för nervgas får ständigt aktiva överföringar av nervimpulser eftersom signalmolekylen inte kan brytas ner. Situationen leder slutligen till allvarliga muskelkramper.

Förmågan hos dessa enzymer att binda till nervgaser och andra OP-föreningar kan utnyttjas i sanerings- och skyddssyfte. Oavsett om enzymerna ska utnyttjas som skydd eller för sanering krävs att de är stabila under en lång tid. Bland annat av denna anled-

²³ För en orientering om nervgaser se: FOI Orienterar om nr 2, Kemiska vapen - hot, verkan och skydd, ISBN 91-7056-108-7 (2002)

ning kombinerar man dem med ett supportmaterial, som dessutom i vissa fall ökar enzymernas aktivitet. En del av dessa supportmaterial som t.ex. polyuretan absorberar även i sig själv nervgaser.

Tvättsvampar, som är tänkta att användas i saneringssyfte, använder sig av de OP-bindande enzymerna (se ovan) och kan återaktiveras med en oximlösning. Oximer används bl.a. som ett medicinskt motmedel mot förgiftning av OP-föreningar och verkar genom att spjälka bort den bundna OP-föreningen från enzymet som då åter blir funktionsdugligt. Genom återaktivering med oximer har "enzymsvampar" återfått sin funktion igen efter att ha återanvänts upp till 20 gånger. Preliminära försök har också gjorts med att binda in en genetiskt modifierad form av butyrylkolinesteras till en polymer. Det här enzymet skiljer sig från vanligt butyrylkolinesteras genom att det även kan bryta ner nervgasen. På så sätt behövs ingen oxim för att "återuppliva" svampen efter användning.

Genom att forma polyuretanenzymiskum till granulat (små korn) och låta dessa ingå i hudkräm har det i laboratorieförsök visats att det går att skapa en hudkräm som skulle kunna utnyttjas som skyddsbarriär och förhindra nervgas att penetrera huden. De aktiva komponenterna, som på försöksstadiet är tänkt att bestå av en blandning av inbindande acetylkolinesteras och muterad butyrylkolinesteras, skulle därmed kunna binda samt även bryta ned nervgas till giftiga substanser.

Ett flertal försök att binda aktiva enzym till material för skyddskläder mot OP-föreningar har gjorts. Avsikten med detta är bl.a. att finna ett lättviktsalternativ till den treskikts C-stridsdräkt som används av det amerikanska försvaret. Mellanskiktet hos denna skyddsdräkt består idag av absorberande polyuretan-aktivt kol.

Det är inte bara polymerer i kombination med olika enzymer som har studerats för OP-saneringsändamål. En lösning är att fästa hela bakterieceller på ett supportmaterial. *Escherichia coli* har modifierats gentekniskt till att exponera OP-hydrolas på cellytan (normalt finns dessa enzymer inuti cellen). Bakterierna har därefter genom adsorption satts fast på polypropylenfibrer. Materialet går att lagra i minst en månad utan att tillsätta något annat än en buffert och de kan användas vid upprepade destruktionscykler. Materialet har gjorts effektivare genom att enzymet har modifierats genetiskt och då bryter ner OP-föreningar upp till 25 gånger effektivare. Ett tänkt användningsområde är filter för att rena processvatten från nervgasdestruktionsanläggningar.

En annan lösning har uppnåtts genom att kombinera OP-hydrolas med en ankringsfunktion från ett annat enzym. Genom att sammansmäla arvsmassan för hydrolaset med arvsmassan för en del av ett cellulosa-bindande protein erhålls ett s.k. fusionsprotein som både kan binda till cellulosa och bryta ner OP-föreningar. Kombinationsenzymet blir relativt lätt att rena fram; olika typer av cellulosafibrer tillsätts och enzymet fiskas upp i ett enda steg. Upprepade tester visar att fusionsenzymet behåller ca 85 % av sin aktivitet efter en månad och att det tål upprepade cykler av OP-nedbrytning.

Enzympolymerbaserade material utgör en lovande teknik och kommer sannolikt att utvecklas under de närmaste åren. Det är troligt att man kommer att sträva efter att ta fram en blandning av olika enzymer som ger skydd mot ett brett spektrum av nervgaser i samma material. Dessa material kommer troligen att kombineras med andra, icke enzymbaserade saneringssystem. Kommersiella applikationer kommer sannolikt att finnas tillgänglig inom en tioårsperiod.

Genetiskt modifierad stärkelse

Ytterligare ett material med biologiskt ursprung som är en kandidat för genetisk modifiering är stärkelse. Denna polymer är det primära sättet för gröna växter att lagra den energi de har omvandlat genom fotosyntesen från koldioxid och ljus till socker. I växterna lagras stärkelsen oftast som små korn. Stärkelse används redan idag i stor utsträckning inom livsmedelsindustrin eller t.ex. som en icke oljebaserad råvara i delar av plastindustrin och som en råvara i pappersindustrin. För många applikationer där stärkelse idag används måste dess egenskaper förändras kemiskt eller mekaniskt. Forskning pågår för att genetiskt försöka förändra stärkelsekompositionen redan i växten och på så sätt erhålla en lämplig industriellt anpassad utgångsprodukt.

Stärkelse består av två olika polymerer uppbyggda av sockerarten glykos. Den ena polymeren, amylos, är en lång, i stort sätt ogrenad, kedja av glykosmolekyler. Amylopektin, som den andra polymeren kallas, är däremot starkt grenad och utgör normalt mellan 70-80 % av stärkelsen. Bland annat beroende på kvoten mellan de två olika polymererna samt hur grenade dessa är får stärkelse olika egenskaper. Merparten av den naturligt förekommande stärkelsen i växter lämpar sig dock dåligt för att framställa industriellt användbara polymerer varför olika försök har gjorts för att manipulera stärkelsekompositionen. Det har t.ex. ända sedan 1950-talet med hjälp av traditionell växtförädling varit möjligt att producera stärkelse med ett amylosinnehåll på ända upp till 90 %. Stärkelse med ett högt amylosinnehåll används i bl.a. livsmedelsindustrin för att göra geler och som ytbehandlingsmedel.

Idag försöker man med hjälp av modern genteknik ändra stärkelsens egenskaper. I t.ex. en växt finns ett flertal olika enzymer som är inblandade i syntesen av stärkelse. En del av dessa enzymer (samt regleringen av dessa) bestämmer bl.a. hur grenade stärkelsekedjorna blir. Genom att modifiera dessa enzym och deras reglering hoppas man erhålla en stärkelseprodukt som bättre ska passa för produktionen av olika material.

En stor del av intresset runt produkter av stärkelse beror på att dessa är biodegraderbara, vilket innebär att de är fullt nedbrytbara i naturen och inte lämnar några giftiga eller skadliga restprodukter. Det säger sig själv att detta är en mycket intressant egenskap som bl.a. påtagligt kan reducera de problem som är relaterade till världens växande sopberg. Ett användningsområde för stärkelsebaserade produkter som ofta nämns är som förpackningsmaterial för dagligvaror.

Sammanfattning och bedömning av utvecklingen

De generella framtidsutsikterna för denna typ av material är troligen goda. Det finns ett antal stora företag som satsar stora forskningsresurser dels på att kunna framställa biomaterial billigt och dels på att förbättra dess egenskaper. Tyvärr medför detta att en hel del information runt denna typ av material inte publiceras i öppen litteratur innan de skyddas av patent. Det kan därför vara ganska svårt att exakt fastställa hur långt forskningen hunnit inom detta område.

Kommersiella tillämpningar av material som t.ex. spindelsilke ligger troligen minst 10 år in i framtiden. Applikationer för totalförsvaret av denna typ av material för t.ex. skyddsändamål är mycket intressanta och bör bevakas.

Även kombinerade material som t.ex. de saneringssvampar innehållande enzymer som ovan nämns är intressanta. Kommersialiseringen av denna typ av produkter ligger troligen relativt nära i tiden. De första produkterna kommer troligen att finnas på

marknaden inom de närmaste 5 åren. Om dessa produkter är intressanta för Försvarsmakten är i nuläget mer tveksamt. Den positiva utvecklingen av mer traditionella saneringsprodukter som t.ex. saneringsskum gör att dessa under de närmaste åren troligen är ett bättre och billigare alternativ. Området bör dock bevakas.

Biodegraderbara produkter för t.ex. förpackning av föda är redan i nuläget i viss mån tillgängliga. Det är fortfarande förenat med en hel del kostsam efterbearbetning av det biologiska utgångsmaterialet. Förbättrade växtgenetiska metoder och ökad kunskap av de biologiska processerna kommer med största sannolikhet att öka tillgängligheten av denna typ av produkter inom en 5-10-årsperiod. För en modern, miljömedveten organisation är denna typ av material naturligtvis av stort intresse.

7 Molekylär elektronik - bioelektronik - biodatorer

Göran Wendin

Det moderna samhället har blivit oerhört beroende av datorer och elektronik för att fungera. Systemen ska klara av att hantera en ständigt ökande mängd information och detta kräver nya koncept. Ett expansivt forskningsområde är bioelektronik eller molekylär elektronik som är starkt tvärvetenskapligt till sin natur med influens från kemi, elektroteknik, optisk teknik och nanoteknologi. Molekylär elektronik innebär att information på molekylär eller makromolekylär nivå utnyttjas. Det kan röra sig om både biologiska och icke biologiska molekyler, men i det här kapitlet fokuseras på användning av biologiska molekyler inom elektronik - biotronik. Forskningen rör naturliga eller modifierade biologiska molekyler, t.ex. DNA och proteiner.

Biotronik kan definieras som integrering av biologiska, mekaniska, elektroniska, optiska och kemiska system till hybridssystem med specifika funktioner. En väsentlig del kan betecknas som bioelektronik, men utvecklingen går mot mer generella system baserade på bioMEMS²⁴ och lab-on-a-chip. På kort sikt, 5-10 år, kommer dessa system att tillåta olika former av tvåvägskommunikation - elektrisk, kemisk och mekanisk - mellan biologisk materia och artificiella system. De viktigaste tillämpningarna blir sannolikt medicinska, t.ex. diagnos, medicinering och styrning av biologiska processer. På längre sikt, säg 20 år, kommer det sannolikt att utvecklas avancerade gränssnitt som möjliggör generell hopkoppling av naturliga och artificiella biologiska system med system från "den mikroelektroniska kiselvärlden". Detta kan förväntas leda till integrerade system av kopplade biologiska, biomimetiska och nanoelektromekaniska system och processorer. Det bör då finnas realistiska möjligheter att låta biologiska system styra elektromekaniska system och tvärtom. Viktiga tillämpningar blir att koppla artificiella sinnesorgan, sensorer och proteser till biologiska nervsystem. Inom 20 år bör det vara praktiskt möjligt med tankestyrda processer via implantat och externa sensorer för nerv- och neuronsignaler kopplade direkt till nervstammar utgående från hjärnan. På ännu längre sikt bör förmodligen signaler från grupper av hjärnceller för styrning av processer direkt kunna tolkas och utnyttjas. Grundforskningsexempel på detta finns redan.

Bakgrund

För närvarande pågår en teknisk revolution som inom ett par generationer kan komma att förändra människans villkor. I skärningen mellan mikroelektronik, materialfysik, datorteknologi, kemi och biologi sker en utveckling av komponent- och systemteknologi på mikro- och nanometerskala. Denna utveckling har länge varit uppenbar inom mikroelektronik och VLSI²⁵-teknologi: nedskalningen av halvledarkretsar ("top-down" metoder) förväntas närma sig 10 nanometer kring 2015, varefter kvantfenomen kan komma att kräva radikalt nya lösningar.

Genom forskning och utveckling inom fysik och kemi har metoder utvecklats för att bygga strukturer atom för atom, molekyl för molekyl, via styrda instrument eller självorganiserande processer, bottom-up-metoder. Metoder utvecklas för att efterlikna biologiska system och processer. Kombinationer av konstgjorda och naturliga struk-

²⁴ Mikroelektromekaniska sensorelement

²⁵ Very Large Scale Integration. Teknik för att framställa integrerade kretsar med tiotusentals komponenter

turer, t.ex. halvledare och biologiskt material, kommer att leda till möjligheter att styra biologiska processer via elektronik och elektronik via biologiska processer. Till detta kommer hur kunskapen om biologiska system - DNA, proteiner och celler - kan komma att direkt eller indirekt påverka utvecklingen av artificiella komplexa system.

Samtidigt pågår en intensiv utveckling av modeller för komplexa system, artificiell intelligens och artificiellt liv. Kombinationer av mikro/nanoelektronik/optik, mikro-mekanik och mikromotorer med flexibla datorarkitekturer, genetiska algoritmer och artificiell intelligens kommer sannolikt att under de kommande 20 åren revolutionera den tekniska utvecklingen inom informations-, robot- och rymdteknologi. På längre sikt, i kombination med naturlig och artificiell biologi, är det bara fantasin som sätter gränser.

Datorsystem och datorarkitekturer

Som nämnts kommer nedskalningen av halvledarkomponenter att nå svårforcerade fysikaliska barriärer kring 2015. Även om mängder av tekniska genombrott kan komma att förskjuta denna tidpunkt 10-20 år framåt, så kan det knappast förändra problemet i grunden: utvecklingen kommer att plana ut vad gäller processorhastigheter och packningstäthet och istället gå mot ökande komplexitet och flexibilitet. Detta betyder dels flexibla parallella, rekonfigurerbara arkitekturer med konventionell CMOS²⁶-teknologi, t.ex. FPGA²⁷, dels nya typer av nanoelektronik, molekylelektronik och kvantkomponenter. Den ökande komplexiteten kommer att tvinga fram feltoleranta och självkorrigerande teknologier, arkitekturer och programvaror. Redan nu börjar det bli mycket svårt att verifiera funktionen hos stora processorer och program. Den ökande komplexiteten leder till att bioinspirerade system blir alltmer aktuella och intressanta, alltså olika typer av s.k. neuromorfa system. Dylika system kan implementeras i konventionell CMOS-VLSI-teknologi genom att simulera neurala nätverk i mjukvara eller cellautomater eller genom genetiska algoritmer och genetisk programmering, d.v.s. självutvecklande och självlärande program. Utvecklingen går alltså mot både självutvecklande hårdvara och mjukvara. Biologiska levande system är då uppenbara förebilder.

Molekylelektronik, bioelektronik, biotronik och biodatorer

Molekylelektronik är en bred samlingsbeteckning för olika sätt att inkorporera molekyler i system för elektronik och informationsbehandling. Det kan innebära allt från att försöka bygga nanometerstora molekyltransistorer och minnesceller för digital elektronik till att bygga molekylära neuromorfa komplexa nätverk. Molekylerna är typiskt organiska molekylkedjor och kolnanorör, men kan även vara DNA-fragment. I det här sammanhanget representerar DNA molekylelektronik och inte bioelektronik. Bioelektronik involverar transportprocesser i naturliga och artificiella biologiska system, t.ex. membraner, celler och nerver. Biotronik kan definieras som integrering av biologiska, mekaniska, elektroniska, optiska och kemiska system till hybridssystem med specifika funktioner. En väsentlig del kan betecknas som bioelektronik, men ut-

²⁶ Complementary Metal-Oxide Semiconductor. Benämning på halvledarkretsar som bygger på s.k. MOS-teknik. CMOS-kretsar är mycket strömsnåla och används i nästan all elektronik.

²⁷ Field Programmable Gate Array. En generell krets som innehåller en matris av logikelement som kan konfigureras, d.v.s. laddas med information som beskriver vilka funktioner som ska utnyttjas och hur de ska kopplas samman.

vecklingen går mot mer generella system baserade på bioMEMS och lab-on-a-chip, vilket även inkorporerar flödessystem, mekanik och optik i mikro- och nanoskalor.

När det gäller biodatorer är det lämpligt att begränsa begreppet till att gälla informationsbehandling med naturliga (och artificiella, när så blir möjligt) cellkulturer, koplade till naturliga eller artificiella sensorer och motorer. På så sätt blir biodatorer allt från naturliga hjärnor till levande hjärncellspreparat till uppodlade cellkluster.

En rapport från NIH²⁸ ger följande definition och sammanfattning av området bionik: Grundläggande biomolekylära livsprocesser skapar, behandlar och förmedlar information med hög täthet och noggrannhet. Storskalig analys av arvs massa och det framväxande området bioelektronik visar att biologins framtid är en fråga om att förstå hur celler behandlar information lagrade i molekyler. Kiselbaserad elektronisk information är en av orsakerna till denna molekylbiologiska revolution, främst genom mikrochipbaserade analysinstrument och informationsbehandling med datorer. Samverkan mellan konstgjorda och naturliga informationssystem kommer att driva fram en utveckling mot att förstå hur man kan närmare koppla ihop elektronik med cell- och molekylärbiologisk funktionalitet, genom att t.ex.

- använda biologiska maskiner för att konstruera nanomaskiner,
- integrera biologiska maskiner med nanomaskiner,
- använda proteiner för att konstruera nanomaskiner,
- modifiera cell-elektronikgränssnittet så att cellen känner igen elektroniken som en del av sig själv och elektroniken känner igen cellens signaler och kan påverka ("kontrollera") dess funktioner,
- förstå hur information passerar ut och in genom ett system av neuroner²⁹ och hur neuronerna växelverkar med varandra.

Det finns många hinder på vägen mot bioelektroniska gränssnitt, vilket blir uppenbart om man jämför funktionssättet hos dagens elektroniska system med biologiska system. Den centrala komponenten i halvledarelektronik är fälteffekttransistorn (FET), vilken består av en tvådimensionell lagerstruktur med litografiska komponenter. Den integrerade kretsen utför ett fixt två-dimensionellt nätverk av komponenter (ca 10 FET/ μm^2). Adressering och datatransport sker via elektriska fält och fasta metalledare.

Biologiska system, å andra sidan, utför sin informationsbehandling i vattenbaserade tredimensionella medier där diffusion av budbärarmolekyler spelar rollen av metalledare och databussar. Adressering sker genom ett känsligt system för igenkänning av former, inbyggt i växelverkan mellan molekylära receptor-ligandstrukturer. Denna biologiska adresseringsmetod är mycket långsammare än den elektroniska, men vinner genom sin enorma täthet av informationsbärare och sin funktionalitet. Att konstruera ett robust och effektivt gränssnitt mellan så olika teknologier som biologi och halvledarelektronik kommer att kräva en myriad av verktyg från olika discipliner. Några närliggande steg på vägen kan inkludera inkorporering av biomolekyler i elektroniska kretsar, och biomimetiska byggsätt för halvledarelektronik och algoritmer, t.ex. utvecklingsbar hårdvara och genetisk programmering.

²⁸ Nanoscience and Nanotechnology: Shaping Biomedical Research June 2000 Symposium Report <http://www.becon.nih.gov/nanotechsypmreport.pdf>

²⁹ En neuron är en nervcell där nervimpulser förmedlas

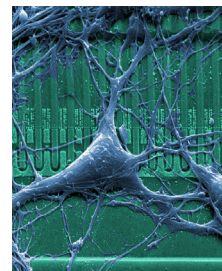
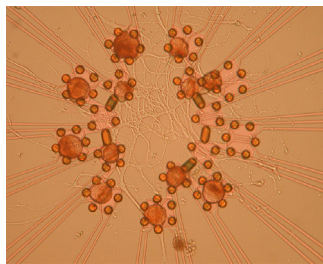
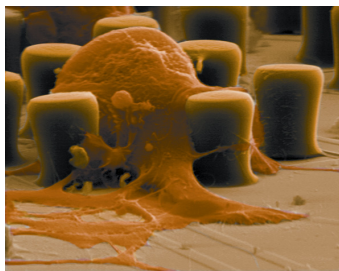
Framtida forskning

Kontaktering av cellkulturer av levande neuroner och biologiska neuronät via mikroelektroder och FET

Kommunikation med levande celler kan dels ske elektroniskt via ströminjektion (injektion av joner) och elektriska fält, dels kemiskt via injektion av kemiska substanser i celler och synapser. Påverkan kan även ske mekaniskt och optiskt.

En mycket viktig utveckling är samverkan mellan biologi och fysik, nämligen att fysikaliska metoder (mikro- och nanoteknologi) används i ökande grad för att studera och påverka biologiska fenomen. Exempelvis har experiment beskrivits där små neuronala nätverk odlats på mikrostrukturerade substrat med integrerade nätverk av metallektroder och FET (se figur 10). Den elektriska aktiviteten i cellen ger tillskott av energi via kapacitiv koppling till metallektroder och detekteras via kapacitiv koppling till FET styrelektroder.

Samma typ av integrerat mikroelektroniskt substrat har utnyttjats för att studera den elektriska signalaktiviteten i hjärnvävnad från råttor (se figur 11). Tätheten av mätpunkter på substratet medgav en upplösning på cirka 5 μm , vilket räckte för att kunna identifiera elektrisk aktivitet från enskilda synapser. Förväntningen inom området är att rums- och tidsupplösning av den elektriska aktiviteten i neuronala nätverk ska ge direkt inblick i den neuronala informationsbehandlingen.



Figur 10. Bilder på nervceller som placerats på olika typer av mikrochipstrukturer. En nervcell hålls på plats av ett ”plaststaket”. Om en cell stimuleras av en signal leds signalen via synapserna till närliggande nervceller. Figurerna 10 och 11 kommer från Peter Frommertz, institutet för biokemi, Max-Planck-institutet, Tyskland. Med vederbörligt tillstånd.

Figur 11. En nervcell från en råttjärna på matris av FET. Ström-signaler i cellen interagerar med den elektriska kretsen.

Ett annat exempel är studier av tvåvägskommunikation med kulturer av hjärnceller från råttor odlade på substrat med nätverk av metallektroder. Rums- och tidsupplösta aktivitetsmönster i cellkulturen utnyttjas för att styra en varelse (animat) som lever i en datorgenererad simulerad verklighet (virtual reality). Sinnesintryck till animaten återkopplas till cellkulturen via ett rums-tidsmönster av elektrisk stimulering i realtid (bråkdelen av en sekund). Inlärning definieras som en beteendeförändring som ett resultat av erfarenhet. Genom att förse en cellkultur med en kropp och en omgivning visar det sig möjligt att betrakta förändringar i cellnätverkets elektriska aktivitet som resultat av inlärning. Bestående förändringar kan betraktas som minnen!

I små mikrostrukturerade komponenter med mikroelektroder och kanaler för vätske-transport har man observerat tidsberoende mönster av synaptisk³⁰ aktivitet av signal-

³⁰ I synapsen överförs nervimpulsen

substanser som funktion av biokemisk påverkan via nivån på magnesiumkoncentrationen.

Kontaktering av biologiska neuronnät i en levande hjärna via mikroelektroder

Forskare vid Göteborgs Universitet har tillsammans med en amerikansk grupp implanterat ett knippe mikroelektroder i en aphjärna och tagit ut signaler från motorcentra. De har lyckats fjärrstyra en robotarm med signaler direkt från hjärnan via signalbehandlig med artificiellt neuralt nätverk (ANN) och robotarmen följer rörelserna då apan manövrerar en spak eller plockar upp ett äpple. Direktkoppling av in- och ut signaler mellan hjärnan och perifera enheter är alltså i viss utsträckning tekniskt möjligt redan nu. Relativt snart bör det bli möjligt att koppla in sinnesintryck (syn, hörsel, känsel) och koppla ut motorsignaler för avancerade försök med proteser. Hur de nödvändiga gränssnitten ska konstrueras för att kunna integreras i hjärnvävnad utan skadliga effekter återstår att finna ut. En möjlighet är mikrochip av typen lab-on-a-chip med nätverk av mikroelektroder, FETs och vätskekanaler för elektrisk och kemisk stimulans och detektering, alltså ett nätverk av artificiella synapser. Flera steg i denna riktning har beskrivits i föregående avsnitt.

Utveckling av gränssnitt för koppling av muskler och nerver till mikroelektronik för styrning av handproteser

Denna forskning pågår på många håll i världen och den beskrivs i mer eller mindre fantasifulla termer på Internet. Ett gott exempel är utvecklingen av en handprotes som styrs av ytliga muskelsignaler vilka kopplas och återkopplas via genetisk programmering av ett FPGA-chip. Denna typ av biomimetisk hårdvara kallas ofta EHW (evolvable hardware) och är ett sätt att simulera och evolvera ett neuralt nätverk. En liknande verksamhet pågår i Lund (ArtHand-projektet)³¹, där man också utvecklar ett gränssnitt mellan nerv och kisel för direktkoppling av nervsignaler till ANN och proteser. Denna verksamhet har ännu en bit kvar när det gäller att styra proteser. Metoden att styra medelst muskelsignaler och ANN är dock på gränsen att bli kommersiellt tillgänglig.

Kontaktering och manipulering av artificiella och naturliga celler

Vid Chalmers pågår mycket aktiv forskning för att tillverka och manipulera nätverk av vätskefyllda sfärer av cellmembran på olika typer av substrat och även i kontakt med levande celler. Forskningen kommer att leda till biokemiska reaktorsystem, konstgjorda celler och hybridsystem med levande celler, kontakterade via gränssnitt byggda med bioMEMS-teknologi. I detta sammanhang bör också nämnas "Biometric Materials Science", ett mycket framgångsrikt svenskt konsortium, finansierat av Stiftelsen för strategisk forskning. Där kan man bl.a. finna exempel på hur levande celler med viss funktionalitet kan isoleras och användas som sensorer och detektorer för biokemiska ämnen, och även att ämnet cellen reagerar på kan kontrolleras via genmanipulation.

Framtida utveckling

Generellt går utvecklingen mot ökad förståelse och kontroll av dubbelriktat informationsutbyte mellan artificiella system och naturliga biologiska system. Nyckelbegrepp kommer att utgöras av styrd cellutveckling, styrd biokemi och cellkemi, styrd vävnadsodling och -regenerering samt styrd tolkning och omsättning av genetisk informa-

³¹ <http://www.elmat.lth.se/forskninge/MikrosysE/neuralE.html>

tion. De artificiella systemen kan vara baserade på många variationer av mikroelektronik (halvledare, speciellt kisel, polymerer, biomolekyler; konventionell elektronik eller biomimetiska system) och på såväl litografiska (top-down) som självorganiserande (bottom-up) tillverkningsprocesser. Mikroelektroniken kommer att utvecklas mot mikro- och nanoteknologi för integrerade system med optoelektronik, mekanik och fluidik (MEMS, MOEMS³², NEMS³³). För närvarande utvecklas bioMEMS som plattformar för biomolekylära, biologiska och medicinska analyser, med välkända begrepp som exempelvis lab-on-a-chip, total analysis systems (TAS) och DNA-chip. På lite sikt kommer ur detta att utvecklas kontrollsystem för biologiska funktioner, och på längre sikt regler- och kommunikationssystem för neurala funktioner. Dyliga system kan i vid mening kallas biodatorer. Vad beträffar informationsbehandling med biologiska neuronät är det emellertid för närvarande ganska meningslöst att försöka gissa om och när man kan skapa hjärnor med processorkapacitet liknande naturliga högre stående biologiska system. Vägen mot artificiell intelligens och medvetna maskiner kommer att bli mycket lång och det är omöjligt att sia om och när artificiella biologiska system kommer att vinna över kiselvärlden när det gäller ren informationsbehandling.

Det är bara alltför lätt att hänge sig åt spekulationer på gränsen till science fiction när det gäller bioelektronik, biodatorer, intelligens och konstgjorda hjärnor. Som en jämförelse: Arthur Clarke skrev boken 2001 kring 1960, samtidigt med födelsen av den integrerade kretsen. Under de följande 40 åren har det skett en explosiv utveckling av informationsteknologin, men den tänkande medvetna (?) datorn HAL är fortfarande avlägsen. Man kan förvänta en liknande utveckling inom bioelektronik: en explosiv utveckling inom tvåvägskommunikation mellan artificiella system och naturliga biologiska system vars konsekvenser är svåra att överblicka, men som troligtvis kan leda till långtgående integration och ömsesidig kontroll. Däremot är det inte troligt att det på mycket länge än går att uppnå den komplexitet som är nödvändigt för att skapa sann artificiell intelligens. Det krävs förmodligen en långvarig teknisk utveckling på bred front under kanske 50 år för att finna förutsättningarna för självmedvetna konstgjorda hjärnor. För övrigt har vi problem med definitioner: tänker en hund? en mus? en fågel? en fisk? en mask? Var går gränsen?

En möjlig tidtabell för bioelektronik för de närmaste tjugo åren skulle kunna ha följande hållpunkter:

Utveckling på 5 års sikt

- Utveckling av bioMEMS för kroppsinbäddade komplexa sensorer, detektorer och injektionssystem för medicinsk diagnostik och för styrning av specifika biologiska funktioner
- Utveckling av gränssnitt för koppling av nerver till mikroelektronik för styrning av proteser
- Detaljstyrning av proteser via sensorer inbäddade i muskler
- Styrning av proteser via signaler från gränssnitt mellan nerver och mikroelektronik
- Tvåvägskommunikation med enskilda nervceller och små neuronät
- Elementära logiska operationer på små neuronät - elementär biodator.

³² Mikrooptiska elektromekaniska sensorelement

³³ Nanoelektromekaniska sensorelement

Utveckling på 10 års sikt

- Utveckling av avancerade cell-chip kommunikationsgränssnitt
- Kopplade biologiska och nanoelektroniska system och processorer
- Biomimetiska (konstgjorda) celler
- Avancerade varnings- och kontrollsystem för biologiska funktioner och felfunktioner
- Styrning av sinnesorgan via signaler från gränssnitt mellan nerver och mikroelektronik
- Styrning av vävnadsodling och vävnadsregenerering.

Utveckling på 15-20 års sikt

- Integrerade system av kopplade biologiska och nanoelektroniska system och processorer
- Integrerade bioelektromekaniska system (robotar)
- Informationsbehandling med biologiska neuronät
- Tankestyrd processer via implanterade och externa sensorer
- Styrning av inlärningsprocesser via implanterade och externa sensorer och informationssystem
- Avancerade konstgjorda sinnesorgan
- Styrning/påverkan av känslor, tankeverksamhet, föreställningsvärld, medvetande.

8 Miljösanering

Per Wikström

Bakgrund

Det finns idag ett brett spektrum av tekniker för sanering av förorenade marker och vattendrag. Orsaken till att det finns flera tekniker snarare än *en* universalmetod är att inget förorenat område är det andra likt. Både kvaliteten, kvantiteten och komplexiteten på föroreningen kan variera högst dramatiskt. Dessutom är matrisen, d.v.s. marken/vattnet/sedimentet, ifråga av stor betydelse för vilken saneringsmetod som ska användas. Andra aspekter som måste beaktas är klimatet och föroreningens utbredning. Det är också viktigt att veta vad det färdigbehandlade området ska användas till. Att använda bioteknik för sanering av förorenade områden är dock lockande eftersom metoderna kan vara kostnadseffektiva och miljövänliga. Potentiellt kan mikroorganismer ta upp ett kemiskt ämne med en komplex struktur, metabolisera detta och göra sig av med avfallsprodukterna vatten och koldioxid, s.k. mineralisering. Föroreningar som innehåller halogener eller kväveatomer ger dock andra nedbrytningsprodukter och dess nedbrytningsvägar är ofta mer komplexa. Det är inte ovanligt att biprodukter som är onedbrytbara och som således ackumuleras i naturen bildas.

En begränsning för användandet av mikroorganismer vid miljösanering är att alltför förorenade miljöer kan, beroende på ämne, vara för toxiska. Dessutom är biosaneringstekniker ofta tidskrävande.

I princip alla saneringstekniker som används storskaligt idag baseras på bioteknik som syftar till att stimulera tillväxtförhållandena för de naturliga mikroorganismerna som redan finns i det förorenade området. Mikroorganismernas naturliga levnadsförhållanden är alltid begränsade med avseende på någon/några parametrar, t.ex. syre, näringssalter, temperatur, vatten och kolkälla. Tillförsel av näringssalter (kväve, fosfor, kalium), vatten, ökad syretillgång samt temperaturhöjning är de basala komponenterna i alla biosaneringstekniker. I undantagsfall är syrefattig miljö att föredra. Vilken saneringsmetod som slutligen används är till stor del en ekonomisk fråga. Det billigaste är att biosanera jorden eller vattnet på plats (*in situ*) utan att gräva och transportera bort. Platsens beskaffenhet, föroreningens natur osv. avgör dock vilken teknik som är mest lämplig.

För att mikroorganismer ska kunna metabolisera miljögifter krävs det att dessa är biotillgängliga. Ju större kemisk struktur föroreningen har desto svårare i vatten är den och därmed mer problematisk för mikroorganismen att tillgodogöra sig. Undantag från denna regel är om föroreningen innehåller s.k. funktionella grupper (t.ex. grupper med syreatomer) i sin kemiska struktur. Funktionella grupper gör att vattenlösligheten ökar och att reaktiva enzymer lättare kan attackera molekylerna.

Inom begreppet mikroorganismer finns förutom bakterier också svampar. Det finns exempel på rötsvampar som istället för upptag av föroreningar kan producera enzymer som utsöndras till svampens omgivning. Svampen använder dessa enzymer för att tillgodogöra sig tillväxtsubstrat från träd. Trä innehåller lignin som i sin kemiska struktur påminner om s.k. polycykliska aromatiska kolväten (PAH). Det är kemiska strukturer med två eller flera ringar, som är toxiska, carcinogena och i vissa fall onedbrytbara för mikroorganismer. Det pågår försök med att använda dessa enzymproducerande svampar för att bryta ned PAH.

Petroleumprodukter, d.v.s. bensin, diesel, smörjmedel och råolja, innehåller ämnen som är relativt lättnedbrytbara för mikroorganismer. Majoriteten av kemikalierna kan tas upp och metaboliseras och det finns kända enzymatiska nedbrytningsvägar för dessa ämnen. PAH förekommer dock också i petroleumförorenade områden.

Många kemiska lösningsmedel som används/har använts inom industrin är halogenerade. Dessa ämnen är små, toxiska, ofta cancerogena och svårnedbrytbara.

Explosivämnen innehåller ämnen med nitrogrupper som är svåra att mineralisera. Försök har gjorts med en kombination av syrerik/syrefattig miljö för att styra nedbrytningsvägarna till ofarliga nedbrytningsprodukter. Mikroorganismer producerar reaktiva nedbrytningsprodukter som reagerar med varandra och således polymeriseras för att slutligen bindas hårt till humusämnena i marken. Den detoxifiering av marken som detta leder till skulle kunna vara tillräcklig som saneringsmetod.

Gamla industritomter med träimpregneringsanläggningar är ofta förorenade med kresot som är en blandning av klorfenoler och PAH. Eftersom användningsområdet är att förhindra mikroorganismer att bryta ned trä så ligger det i sakens natur att dessa ämnen är toxiska för många mikroorganismer. Det finns dock tekniker som möjliggör bionedbrytning även av dessa ämnen.

Gamla gasverkstomter är också ofta starkt förorenade med PAH. Det har dock visat sig att biosanering är olämplig som saneringsmetod eftersom föroreningarna har åldrats och endast tunga PAH finns kvar i marken och i höga koncentrationer³⁴.

Tungmetaller, såsom nickel, zink och koppar, går inte att bryta ned i egentlig mening. Växter, som med hjälp av bakterier tar upp tungmetaller i rötterna och ackumulerar dem i växtens blad, kan dock användas. De skördas efter en tid och marken är då sanerad. De skördade växterna förbränns vid en kontrollerad process där metallerna kan tas om hand.

Generellt är förorenat vatten lättare att behandla än mark eftersom i) om vattnet är förorenat innebär det att föroreningen är vattenlöslig och därmed biotillgänglig, ii) det är lättare att distribuera t.ex. näringsämnen till vatten, iii) föroreningarna sitter ofta hårt bundna till markpartiklar i mikroporer och iv) det blir ett mindre slitage på processutrustning om det är förorenat vatten som behandlas.

Bioteknik

Det finns idag god kunskap om hur miljögifter kan brytas ned av mikroorganismer, bl.a. vilka enzymssystem som gör vad och när. Det har därför i många år funnits en tanke på att kunna designa mikroorganismer på genetisk väg så att dessa enzym-system blir effektivare, kan bryta ned fler ämnen snabbare, fungera vid lägre temperaturer osv. Internationell forskning har pågått i minst 10 år och pågår fortfarande för att ta fram superbakterier som ska kunna användas vid riktiga biosaneringsprojekt.

Det finns flera aspekter på detta. En viktig aspekt är att genetiskt modifierade mikroorganismer (GEM) inte får släppas ut i en naturlig miljö hur som helst. Det krävs att det är känt hur GEM påverkar den övriga mikrofloran samt att de går att spåra i miljön mot bakgrund av alla naturliga mikroorganismer. Forskningsresultaten av nedbrytningsstudier kan se lovande ut i laboratoriet, men vid användning i stor skala i en

³⁴ Soil remediation in a cold climate, COLDREM-projektet

verklig miljö ser man ofta ingen effekt. Det förklaras med att GEM inte klarar sig i miljön p.g.a. att det går åt mer energi för bakterien att bära nyintroducerat genetiskt material, vilket leder till utsatthet i konkurrens med naturliga mikroorganismer.

Det finns en dokumenterad fältstudie där en GEM sattes till en naturlig miljö för att bryta ned PAH. Bioluminescens användes för att detektera denna GEM i miljön, varvid man konstaterade att den bryter ned PAH'er samt överlevde i konkurrens med andra mikroorganismer. GEM kunde påvisas även efter 1½ år vilket anses vara en lång tid och är ett tecken på att det finns potential att använda GEM för miljösaneringsapplikationer.

Växtförädlingsforskning pågår med målet att hitta växter och individuella växtkloner som har anpassat sig till en hög föroreningsgrad samt har förmågan att ta upp föroreningen ifråga genom rötterna. Att genom systematisk undersökning, i laboratorieskala, hitta lämpliga växtkandidater för biosanering och därefter använda dessa för storskalig miljösanering skulle kunna vara en användbar metod vid ytlig spridning av föroreningar.

Försök med transgena växter, d.v.s. växter som på konstgjord väg fått främmande gener, har gjorts för att bryta ned organiska föroreningar t.ex. explosivämnen. Genom att introducera en bakteriell gen, som bär information för ett trinitrotoluen (TNT)-nedbrytande enzym, i tobaksplanta lyckades man få plantan att omvandla TNT till ett ofarligare ämne. Tillståndsförfarandet för att odla transgena växter ute i en naturlig miljö är dock strikt på samma sätt som för GEM.

Framtidens utveckling

Trots relativt många års forskning kring bioteknik/molekylär biologi och miljösanering är läget fortfarande "lovande" och "med hög potential" snarare än att det finns färdiga applikationer. Utvecklingen inom miljösaneringen har främst handlat om ingenjörsmässiga tekniska framsteg som att blanda, pumpa, tillsätta näringsämnen på effektivare sätt än tidigare för att optimera för den naturliga mikrofloran.

Nu finns dock genom molekylärbiologiska metoder stora möjligheter att skraddarsy både mikroorganismer och växter till att producera enzymer som kan bryta ned olika typer av miljögifter. Den stora utmaningen ligger dock i att gå från laboratoriemiljö till en tuff mikrobiell verklighet.

Framtida applikationer

Utveckling på 5 års sikt

Fler försök kommer sannolikt att genomföras där GEM designas för att kunna bli effektivare på att bryta ned miljögifter och samtidigt klara sig i konkurrensen med naturliga mikroorganismer. Dessutom måste det bevisas att dessa GEM inte påverkar den naturliga mikrofloran på något negativt, okontrollerat sätt.

Bioteknikutvecklingen avseende växter som med bakteriers hjälp tar upp och ackumulerar tungmetaller kommer troligtvis att växa i och med att forskningen inom transgena växter generellt är på frammarsch.

Utveckling på 10 års sikt

Det är troligt att det finns ett antal GEM-kandidater, s.k. superbakterier, välanpassade med hög nedbrytningskapacitet, som visat sig vara harmlösa att sprida i naturliga miljöer och som är anpassade för vissa miljösaneringssituationer.

Ett analogt resonemang kan föras angående transgena växter.

9 Biologiska energikällor: Förnyelsebar vätgas, morgondagens energibärare från biologiska system?

Peter Lindblad

Det moderna samhället slukar energi och trenden för framtiden är ett allt mer ökat behov. Den energi vi förbrukar kommer idag dels från de förnyelsebara energikällorna biobränsle, sol, vind och vatten och dels från de icke förnyelsebara, ändliga energikällorna olja, biogas och kol. Den dominerande energikällan utgörs av fossila bränslen. Förekomsten är ojämnt spridd och användningen orsakar lokal och global miljöpåverkan. Dessutom är resurserna inte outtömliga och vi ser redan idag en osäkerhet i var morgondagens olja ska komma ifrån och till vilket pris.

Idag är miljöaspekten av olika energikällor omdiskuterad, speciellt effekten av koldioxidutsläppen. I framtiden kommer det att finnas ett enormt behov av att skapa ett hållbart energisystem som medger att utnyttjandet av nuvarande dominanta energikällor reduceras och att därmed växthuseffekten minskar. Under de två senaste decennierna har forskningen intensifierats i syfte att finna tekniker som gör att vi kan nyttja energin effektivare och som utgör miljövänliga alternativ. Vilka är morgondagens primära energikällor och i vilken form kommer denna energi att användas?

I detta kapitel behandlas en möjlig framtida energibärare, vätgas. Grönalger och cyanobakterier, som är naturliga vätgasproducenter, kan med biotekniska verktyg modifieras till en ökad produktion. Denna vätgas skulle kunna driva bränsleceller som omvandlar kemisk energi direkt till elektricitet. Detta ger en betydligt högre verkningsgrad än andra energikällor, upp till 80 %. En bränslecell är uppbyggd på samma princip som ett batteri, med den skillnaden att den inte blir urladdad, då nytt bränsle tillförs hela tiden och restprodukterna avlägsnas, så att den kemiska processen fortlöper kontinuerligt. Forskningen har tagit ny fart de senaste åren och speciellt bilindustrin satsar på bränsleceller som en framtida ersättning av fossila bränslen. Det skulle innebära en stark reduktion av miljöföroreningarna, då betydande delar av världens utsläpp kommer från transportsektorn.

Utvecklingen av teknik för alternativa energikällor befinner sig idag på en forskningsmässigt basal nivå och konkreta applikationer för totalförsvaret bedöms ligga i en relativt avlägsen framtid (15-20 år).

Bakgrund

Vätgas (H_2) är en framtida, miljömässigt ren, energibärare. Anledningen till att vätgas ofta diskuteras som en av de möjliga stora energibärarna i framtiden är inte vätegaset i sig utan utvecklingen av bränslecellen. Förenklat fungerar en bränslecell genom att vätgas och syrgas förbrukas medan elektricitet och vatten bildas. Vätgasproduktion blir därigenom ett sätt att lagra elektrisk energi. Idag finns inga kommersiella produkter där vätgas och bränsleceller används. Under de närmaste åren kommer vi att se ett flertal demonstrationsprojekt för att prova tekniken, utveckla systemen och helt enkelt se hur tekniken fungerar. Dessutom måste stora insatser göras för att få ner priset på själva bränslecellerna. I Sverige kommer försök att genomföras med bränslecellsbusar/vätgas i Stockholm, Visby, Göteborg och troligen också Malmö. De stora personbilstillverkarna har börjat testa bränslecells-bilar och de första exemplaren är redan tillgängliga (på några få marknader) som leasingbilar. År 2010 anges ofta som

det är de första kommersiella bränslecellsbilarna gör entré. Tekniken går även att använda i mobila applikationer, bl.a. utvecklas mindre bränsleceller för användning i t.ex. mobiltelefoner och portabla datorer. Drivkraften för denna utveckling är möjligheten till betydligt längre kontinuerlig drift än med dagens batterier.

Framställningen av vätgas

Framställningen av vätgas är på kort sikt inget problem. Både fossila bränslen och elektrisk energi kan användas i beprövad kommersiell teknik för att producera vätgas. Intressant är den mångfald av sätt som finns för att tillverka förnyelsebar vätgas:

- förnyelsebar elektricitet (t.ex. solceller, vattenkraft, vindkraft),
- biologiska system (allt från biologisk nedbrytning/kompostering till en kombination av fotosyntes och vätgasproduktion),
- förgasning av biomassa. Kopplat till förnyelsebar elektrisk energi blir vätgas ett sätt att lagra elektricitet som sedan kan genereras vid behov i en bränslecell.

Solens energi kan användas antingen i fotokemiska³⁵ eller i fotobiologiska³⁶ system för att t.ex. spjälka vatten till beståndsdelarna protoner och elektroner vilka sedan tillsammans kan bilda vätgas. En fördel med att använda biologiska system, och inte t.ex. solceller, är att det inte behövs några avancerade material utan de olika organismerna växer av sig själva i ett helt förnyelsebart system. Ett annat alternativ är att plocka ut olika nyckelkomponenter från de biologiska organismerna och skapa artificiella system för vätgasproduktion baserat på vad som har utvecklats i naturen genom evolutionen. Ett problem är att verkningsgraden för närvarande är mycket lägre i biologiska system än motsvarande solcellsbaserade system. Här finns dock en stor potential och samtidigt en utmaning inför framtiden.

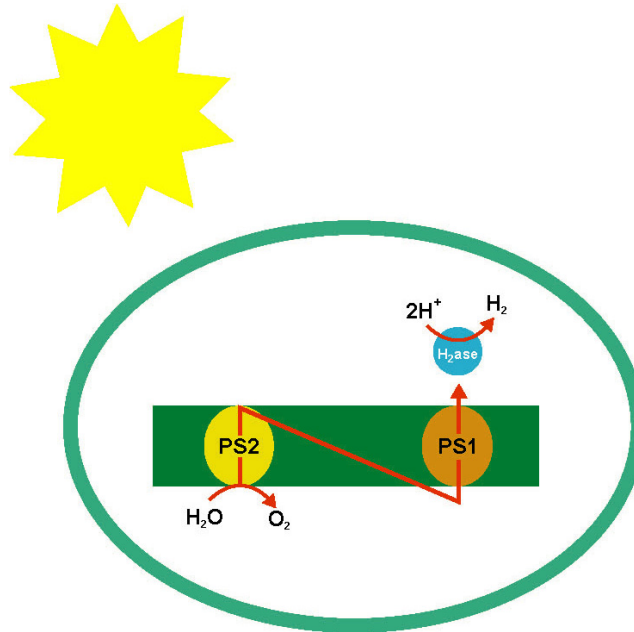
Många mikroorganismer kan både tillverka och ta upp vätgas, processer som katalyseras av en grupp enzymer, s.k. hydrogenaser. Vätgas kan även bildas som biprodukt vid andra biologiska reaktioner i cellen, t.ex. kvävefixering. Evolutionen har, förutom enzymerna som producerar vätgas, även utvecklat effektiva upptagshydrogenaser, som ser till att organismen kan återutnyttja, ta upp, den energirika molekylerna igen. Därför kan man säga att i naturen sker en stor vätgasproduktion men ingen vätgas lämnar systemet, det tillverkas och tas upp igen inom systemet/organismen/det lilla ekosystemet.

Många olika fotosyntetiserande mikroorganismer³⁷ (fotosyntetiserande bakterier, cyanobakterier samt grönalger) kan liksom gröna växter omvandla solens energi till kemisk bunden energi. Hos cyanobakterier och grönalger spjälkas vatten till protoner och elektroner genom fotosyntesen. Dessa produkter kan sedan användas vid syntesen av vätgas (figur 12).

³⁵ System där ljus framkallar kemiska reaktioner

³⁶ System med organismer som reagerar på ljus, t.ex. fotosyntetiserande bakterier

³⁷ Organismer som utnyttjar ljus som energikälla

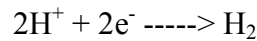
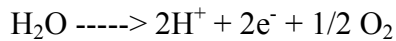


Figur 12. Förenklad bild över fotosyntesen med tillkopplad vätgasproduktion; Vattenspjälkning i fotosystem II, PS2 elektrontransportkedja till fotosystem I, PS1 och sedan ett aktivt hydrogenas som utvecklar vätgas.

Två biologiska processer kopplas ihop, fotosyntes och vätgasproduktion i en mikroorganism som bildar vätgas från sol och vatten.

fotosyntes

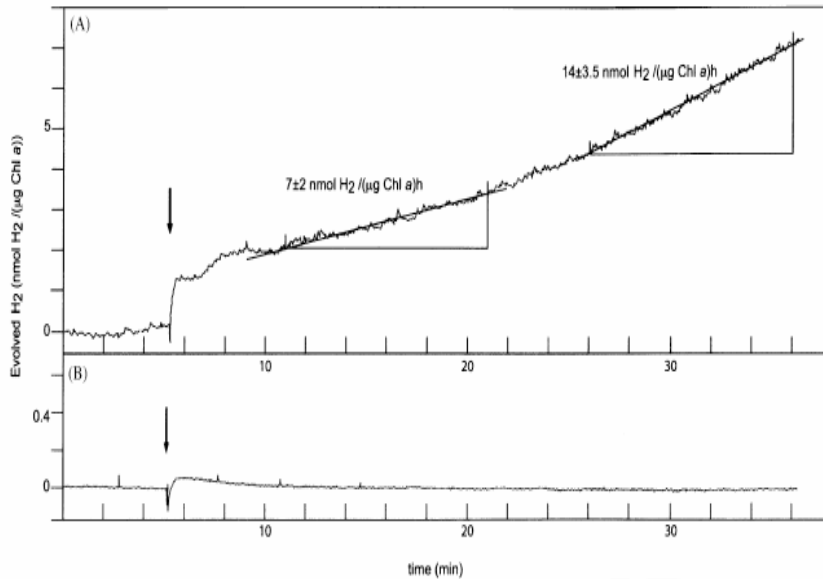
hydrogenas



Detta sker inte i naturen. Eftersom det vore ett stort energislöseri av organismen att släppa ut den producerade vätgasen i omgivningen återanvänds energin i gasen med hjälp av de ovan nämnda hydrogenaserna. Ett bra exempel är cyanobakterier vars hela genuppsättning är känd (t.ex. *Nostoc punctiforme*) och som kan både tillverka och ta upp vätgas.

Med utgångspunkt från cyanobakterien kan man med biotekniska verktyg skapa en mikroorganism som kontinuerligt producerar vätgas från sol och vatten enligt följande:

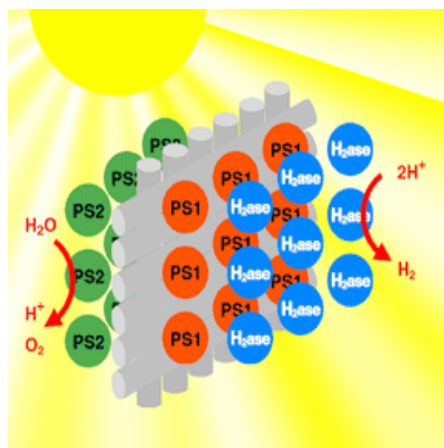
- identifiera de delar av arvsanlaget som behövs för att tillverka upptagshydrogenas,
- göra en mutant där dessa gener inaktiveras,
- Karaktärisera mutanten och visualisera att den kontinuerligt tillverkar vätgas från sol och vatten (se figur 13).



Figur 13. Vätgasutveckling från den naturligt förekommande (nedre kurvan) och den förändrade varianten (övre kurvan) av cyanobakterien *Nostoc punctiforme*. Pilen visar när lampan (solen) tändes. Notera att i båda varianterna sker en stor vätgasproduktion men det är bara i den förändrade varianten som vätgasen lämnar systemet p.g.a. avsaknaden av ett upptagshydrogenas som kan ta upp vätgasen igen.

Det här systemet ger inte mycket vätgas. Mindre bioreaktor försök, genomförda utomhus under en sommar, visade en kontinuerlig vätgasproduktion så fort solen kom upp, med en maximal produktion på 14,9 ml vätgas per timma och liter celler.

Exemplet ovan visar en cell med en genetisk förändring. Försök pågår att göra ytterligare genetiska förändringar med målsättningen att öka vätgasproduktion och minska/stoppa tillväxten av nya celler – d.v.s. en stående kultur som kontinuerligt tillverkar vätgas. Men det mest visionära är artificiella system. Försök görs idag att plocka ut nyckelkomponenter för energiproduktionen (fotosyntes, vattenspjälkning) och förmågan att bilda vätgas (hydrogenaser). Nyckelkomponenterna placeras på ett membran/support, se figur 14.



Figur 14. Schematiskt artificiellt system som tillverkar vätgas från sol och vatten med olika komponenter från fotosyntesen (PSII och PSI) samt ett hydrogenas. Solljuset fångas in och vatten spjälkas i fotosystem II, med hjälp av hydrogenaser tillverkas vätgas.

Systemet kan även förenklas ytterligare exempelvis genom att enbart fotosystem II och hydrogenas sammankopplas. Svårigheterna är många: Hur ska man bygga det

artificiella PSII, vilket hydrogenas ska man utgå ifrån och hur stor del av det ska man bygga, hur länkar man de två aktiviteterna etc.? Detta är intressant då vätgas är en framtida energibärare som kan tillverkas från biologiska system, t.o.m. direkt från sol och vatten. Vid behov kan lagrad vätgas användas i bränsleceller för att alstra elektricitet. Utvecklar man ett icke växande biologiskt system eller ett artificiellt system kan vätgasen vid behov genereras från solen. Detta kan utgöra ett mycket intressant koncept för applikationer i fält, framför allt under längre perioder, där det finns behov av elektrisk energi för att driva olika mindre och större apparater/maskiner.

Hur verklig är biologisk vätgas idag?

En forskargrupp i USA har lyckats att väsentligt öka vätgasproduktionen hos *Chlamydomonas reinhardtii*, en encellig grönalg, genom att utsätta den för en stressituation. De har fått cellerna att stänga av fotosystem II (syrgasutvecklingen) men fortfarande ha ett fungerande fotosystem I (kan fortfarande fånga in ljusenergi och omvandla det till kemisk energi i form av molekylen ATP). Det betyder att cellerna tillverkar ATP (från solenergin) men det sker ingen syrgasutveckling (ingen spjälkning av vatten). Gruppen bakom upptäckten och deras finansör, Department of Energy, USA, anser att detta arbete är av yttersta vikt och kan ge stora potentiella ekonomiska möjligheter. Ett första bolag, vars mål är att tillverka och sälja miljövänlig elektricitet från biologiskt producerad vätgas, har bildats, www.melisenergy.com. Med hjälp av betydande riskkapital byggs för närvarande den första, mindre anläggningen i Kalifornien, USA.

I korthet sker detta genom att man odlar grönalgerna i större bassänger. Därefter pumpas celler till ett mindre utrymme där de koncentreras. Samtidigt byts odlingsmediet till ett nytt som inte innehåller svavel. Bristen på svavel gör att grönalgerna utsätts för en stressituation vilket får syrgasutvecklingen att avstanna. Cellerna överförs sedan till en fotobioreaktor, syrgashalten sjunker och hydrogenaset och därmed vätgasutvecklingen induceras. Utvecklade gas samlas upp (innehåller 99 % vätgas) och efter ett antal timmar återförs cellerna till de större, öppna bassängerna, svavel finns åter i mediet, grönalgerna börjar växa och fotosyntetisera igen och vi är tillbaka där vi startade. Hela processen är reversibel.

10 Teknikutvecklingens inverkan på hotbilden avseende biologiska och kemiska stridsmedel

Lena Norlander

Bakgrund

De första gentekniska experimenten genomfördes 1973 i bakterier och inom några få år restes farhågor kopplade till de nya teknikerna. Det var i första hand etiska frågor som debatterades men de följdes snabbt av alarmerande artiklar om risken för att de nya teknologierna skulle kunna utnyttjas för konstruktion av förstärkta eller nya stridsmedel. I en artikel från 1982 framfördes exempelvis att teknikutvecklingen medfört att det blivit nödvändigt att omvärdera potentialen hos biologiska vapen; de faktorer som gjort dessa vapen mindre attraktiva kan elimineras med hjälp av de nya teknikerna. Det uttrycktes farhågor om nya möjligheter att förbättra specificitet, effekt och spridningsegenskaper hos stridsmedlen samt att utveckla skyddet för användaren.

Utveckling, produktion, lagring och användning av biologiska och kemiska stridsmedel är strikt förbjuden enligt två konventioner. Det är konventionerna mot biologiska och toxin vapen (BTWC, som trädde i kraft redan 1975) och mot kemiska vapen (CWC, från 1997). Det är främst biologiska vapen som diskuterats i samband med teknologiutvecklingen inom bioteknikområdet. Ett bekymmer är att BTWC saknar kontrollmöjligheter och att det förslag till verifikationsprotokoll som utarbetats inte antogs vid nedrustningsförhandlingarna hösten 2001. Möjligheterna att upptäcka en offensiv verksamhet inom det biologiska området är starkt påverkade av den s.k. dual-use-naturen hos den utrustning och de tekniker som fordras för utveckling och framställning av biologiska vapen. Med dual-use-begreppet avses att utrustning och teknologi till största delen är desamma som finns inom läkemedelsindustrin för produktion av antibiotika och vacciner. Det är svårt att utan mer detaljerad granskning kunna skilja mellan offensiv och defensiv forskning.

Bioteknikens utveckling har medfört enorma potentialer för förbättrat skydd i form av nya mer effektiva och säkra vacciner, förbättrade möjligheter till diagnostik av stridsmedel samt nya behandlingsmedel och -strategier. Denna förbättring av skyddet mot biologiska och kemiska stridsmedel måste vägas mot de ökade hot som målas upp. En balanserad hotbild innehåller båda komponenterna. I den tidigare delen av rapporten har olika framsteg avseende skydd och behandling beskrivits. I detta avsnitt redogörs för de teknologiska framsteg som kopplats till ett ökat hot och vad detta kan utgöras av.

Tidigare farhågor har besannats

I det vetenskapliga samhället har kontinuerligt riskerna för molekylärbiologiskt förändrade biologiska stridsmedel belysts under de två senaste decennierna. Tidigt talades det om

- möjligheterna att förändra smittämnen så att befintlig diagnostik misslyckas,
- att försämra behandlingsmöjligheterna genom att införa antibiotikaresistens
- att förbättra stridsmedlens överlevnad i miljön och vid utspridning.

Sovjetunionen, som var en av de stater som undertecknat och ratificerat BTWC, utvidgade sitt pågående offensiva biologiska program och införde under 1970-talet de

nya teknikerna. I det omfattande program som löpte fram till statens sönderfall i början av 1990-talet utvecklades bl.a. antibiotikaresistenta smittämnen. Molekylärbiologisk forskning bedrevs på en mängd olika virus och bakterier medan en handfull av dessa även anpassades till vapen.

Dagens situation avseende nya hot

Bakterier såväl som virus kan relativt enkelt tillföras nya gener som bär information för nya egenskaper, exempelvis ett toxin. Detta kan drastiskt förändra organismens egenskaper så att den ger upphov till nya svårdiagnosticerade symtom. Senare har farhågorna även rört möjligheterna att förstärka den sjukdomsalstrande förmågan genom negativ påverkan på världens immunförsvar. Kunskapen om människans immunförsvar och dess olika komponenter ökar stadigt och många av immunkomponenterna är idag identifierade, generna är sekvenserade och komponenternas effekter är åtminstone till del kända.

Under de senaste åren har flera vetenskapliga publikationer gett näring åt framförda farhågor. 1997 publicerade ryska författare en artikel där de beskrev konstruktion av antraxbakterier som tillförts en gen från en besläktad jordbakterie. Försöksdjur som vaccinerats mot mjältbrand visades sakna skydd mot den rekombinanta bakteriestammen medan de fortfarande var skyddade mot övriga naturliga antraxbakterier. Denna bakteriekonstruktion var utvecklad vid ett av de tidigare offensiva forskningsinstituterna i Sovjetunionen, det statliga institutet för tillämpad mikrobiologi i Obolensk³⁸. Detta institut har under det senaste decenniet genomgått omfattande konvertering till fredlig verksamhet med hjälp av medel från USA och Västeuropa.

Australiensiska forskare rapporterade 2001 att de modifierat ett tämligen harmlöst smittämne till ett dödligt muskoppsvirus. Detta virus angriper inte människor, men är trots det nära besläktat med smittkoppsviruset. Denna släktskap har bidragit till att modifieringen i virusets arvs massa rönt stor uppmärksamhet runt om i världen. Det har givit upphov till farhågor om att tekniken skulle kunna utnyttjas i andra sammanhang och därigenom öka hotet från biologiska vapen. När de vetenskapliga resultaten först presenterades i januari 2001 beskrevs det som "one step away from the ultimate bioweapon". Syftet med forskningen var att utveckla bekämpningsmedel för möss vilket skulle åstadkommas genom att göra mössen sterila efter infektion med modifierade muskoppsvirus. För att omdirigera och förstärka mössens immunsvaret i önskvärd riktning utnyttjades en gen som bär information för en av immunsystemets styr-signalerna, interleukin-4 (IL-4). Förekomst av IL-4 förstärker antikroppsproduktionen, men hämmar samtidigt andra delar av immunsvaret. Dessa immunmodifierande virus gav upphov till en situation där mössens immunologiska reaktionsväg inte ledde fram till ett skydd. Forskargruppen fann även att vaccinering mot muskoppsvirus gav ett ofullständigt skydd mot den nya virusvarianten. Det vaccin som normalt gav mössen ett fullständigt skydd visades sig skydda enbart hälften av de möss som exponerades för den genmodifierade virusvarianten. Även detta tyder på att en annorlunda immunologisk process framkallas där ett vaccin baserat på ursprungsvirus inte skyddar mot infektion av den rekombinanta virustypen. I förlängningen kan detta innebära att väl fungerande vacciner kan bli verkningslösa lika väl som att effekten av ett vaccin kan förstärkas.

³⁸ The All-Union Research Institute of Applied Microbiology

Framtidens hot

I dagens hotbild beaktas även inverkan av den omfattande kartläggningen av genomen hos en lång rad sjukdomsalstrande organismer. Kartläggningen ger en detaljerad information om mängder av gener som bär information för sjukdomsalstrande egenskaper hos människa, djur och växter. Denna information kommer att medföra fördjupad insikt och kunskap om biologin hos smittämnen. Samtidigt som kunskapen ger enorma fördelar för skyddsforskningen finns oron för att den även skulle utnyttjas i offensiv utveckling. Kunskap om och möjlighet att syntetiskt framställa arvsmassa öppnar nya perspektiv där förmågan att konstruera helt syntetiska organismer är en realitet. I juli 2002 rapporterades att amerikanska forskare utnyttjat genomsekvensen hos ett virus – poliovirus – för att framställa ett syntetiskt virus. Detta konstruerade virus förökades i en cellfri lösning och gav upphov till infektiösa poliovirus. Det är sannolikt möjligt att följa ett liknande tillvägagångssätt även för andra virus, åtminstone virus av begränsad storlek och därmed mindre komplicerad struktur. Det skulle således vara möjligt att framställa viruspartiklar baserat på den publicerade genetiska sekvensen utan att ha tillgång till levande organismer som utgångsämne. Därmed skulle de exportrestriktioner för mikroorganismer, som införts i merparten av världens länder och som har till uppgift att begränsa möjligheterna att bygga upp offensiva program, vara verkningslösa.

Det vetenskapliga samhället har idag tillgång till information om och möjlighet att identifiera många olika klasser av molekyler som har väsentliga roller i cellens fysiologi och hur cellen reagerar under olika förhållanden. Baserat på fakta från genomik och proteomik (som beskrivits i kapitel 2) är det möjligt att förutsäga sådana molekylers tredimensionella strukturer och funktioner. Detta leder till en enorm kunskapsbas för hur cellens fysiologi regleras och vilka de reglerande komponenterna är. Ett flertal s.k. bioregulatorer har idag identifierats och kan framställas i olika produktionssystem. Dessa bioregulatorer, som normalt verkar i mycket låga koncentrationer, skulle utöva en toxisk effekt om de tillfördes i höga koncentrationer. Bioregulatorer betraktats därför som ämnen som skulle kunna bli attraktiva som stridsmedel.

Datorbaserade modeller kan utnyttjas för att designa små molekyler som interagerar med kroppens fysiologiska processer. De har en uppenbar nytta som terapeutiska ämnen men risken finns även att sådana reglerande ämnen skulle kunna utgöra stridsmedel. Datormodeller kan även utnyttjas för att finna den mest stabila strukturen för en molekyl. Exempelvis kan datorer användas för att på ett rationellt sätt finna den mest stabila och biologiskt aktiva strukturella varianten av ett protein eller en peptid. Detta har stor betydelse för utveckling av nya terapeutika men kan även användas för att utveckla nya stridsmedel.

En annan farhåga som nämnts i samband med utvecklingen av de moderna molekylära teknikerna och avancerad datorteknik är att kunna utnyttja synergien mellan två var för sig ofarliga komponenter som tillsammans ger dödlig effekt.

Nya potentiella komponenter genereras ständigt inom läkemedelsindustrin bl.a. genom s.k. kombinatorisk kemi. Det finns snabba effektiva system för att ”skilja agnarna från vetet”, d.v.s. plocka bort de mindre lämpliga varianterna. Bland dessa finns exempelvis produkter med toxisk effekt som skulle kunna utvecklas till effektiva stridsmedel.

Ytterligare en grupp av ämnen som diskuterats i ett hotbildsperspektiv är toxiner. Bland naturligt förekommande toxiner finns ett fåtal som är tillräckligt giftiga och

stabila för att vara attraktiva stridsmedel. Teknologiutvecklingen har medfört ett nytt perspektiv på toxiner som vapen; med molekylärbiologiska metoder kan såväl stabilitet som toxicitet förstärkas. Det är även möjligt att konstruera nya toxiner där den bindande enheten ersatts med en ny enhet som gör det möjligt att styra toxinet till önskvärd vävnad i människans kropp. Sådana konstruktioner har med framgång använts inom cancerterapi men skulle även kunna konstrueras i syfte att generera nya stridsmedel.

Spekulationer har förekommit om möjligheterna att konstruera och använda genetiska och genspecifika vapen. En sådan utveckling antogs kunna ske parallellt med att genterapeutiska metoder blev mer effektiva och använda i större omfattning. Genterapins utveckling (se kapitel 2) har dock karakteriserats av problem och framgångarna låter vänta på sig. Dessutom har kartläggningen av människans arvs massa visat att genetiska skillnader mellan individer inom en population är större än skillnaderna mellan olika populationer. Sannolikheten för att finna ett lämpligt mål för ett etniskt selektivt genetiskt vapen är därför ytterst små. Däremot finns det potentialer för den typen av vapen riktade mot djur och växter, där variationen inom arterna minimerats genom avel.

Utvecklingen inom dagens läkemedelsforskning går mot individanpassade läkemedel. Som framgått i rapporten kommer kartläggningen av människans arvs massa att kraftigt bidra till den utvecklingen. Det finns därmed en risk för att den genererade kunskapen på lång sikt kan utnyttjas för utveckling av populationspecifika stridsmedel i form av substanser som är aktiva på en population och helt verkningslösa på andra.

Slutligen konstateras att den moderna biotekniken möjliggör framställning av många av de tidigare svårframställda mikroorganismerna och substanserna. Det innebär att det idag är möjligt att framställa ett ökat antal organismer och komponenter som teoretiskt sett skulle kunna användas som stridsmedel.

11 Diskussion och bedömning av applikationer för totalförsvaret

Detta kapitel presenterar en sammanfattning och bedömning av det material som behandlats i de tidigare kapitlen. I den avslutande delen ges förslag på biotekniska applikationer som bedömts vara av värde för svenskt totalförsvaret i framtiden. De ämnesområden som har behandlats identifierades under studiens inledande fas som kritiska utvecklingsområden nära förknippade med den expansiva bioteknikutvecklingen. Dessa områden har kategoriserats under översiktliga teman, som anger nyttan (användbarheten) för människan, exempelvis medicinsk behandling av olika typer av skador, framställning av biomaterial och metoder att påvisa organismer och substanser. I många av avsnitten framgår att det är det kommersiella intresset som driver utvecklingen framåt och inte primärt vilken nytta området eller produkten har för människan. Läkemedelsindustrins intresse är en av de faktorer som i högsta grad påverkar utvecklingstakten. Det gäller både rent biotekniska produkter som utveckling inom det icke biologiska området av exempelvis miniaturisering av biosensorer. Inom flera av områdena är informationen begränsad p.g.a. att många patent täcker den pågående utvecklingen. Karakteristiskt för dagens utveckling är en ökad samverkan mellan olika ämnesområden – biologi, kemi, fysik – och ett talande exempel på detta är den expansiva nanoteknologin.

En generell trend inom bioteknikassocierade forskningsområden är att teknikerna har förfinats och blivit mer avancerade och att synergieffekter mellan olika forskningsområden utnyttjas i större omfattning. Exempelvis kunde informationen i människans arvs massa tolkas mycket snabbare än vad som planerats p.g.a. synergieffekter mellan genetisk forskning och utveckling av datorer och datorprogram. Kartläggningen av olika organismers arvs massa har skapat förhoppningar om stora framsteg framför allt inom det medicinska fältet. Informationen om alla arvsanlag hos en människa i kombination med avancerade tekniska analysinstrument, som exempelvis DNA-matriser (mikromatriser) där aktiviteten hos en stor mängd arvsanlag kan analyseras parallellt, innebär helt nya möjligheter att klarlägga mekanismer bakom olika fysiologiska förhållanden. Kunskap om t.ex. olika sjukdomar eller försvarsmekanismer vid skada eller infektion kan utnyttjas för utveckling av nya typer av behandling för skador och sjukdomar.

Genterapi är ett exempel på en ny behandlingsmetod där man försöker bota en sjukdom genom att göra små förändringar i arvs massan. Denna teknik har rönt en viss framgång, men ännu kvarstår en hel del svårlösta problem, bl.a. risken för att metoden kan framkalla cancer, vilket skett hos två barn som behandlats med genterapi. Därför finns i dagsläget större förhoppningar om att tillförsel av nya hela celler kan vara en framkomligare väg att bota genetiska defekter. Forskningen kring stamceller och möjligheten till styrning av dessa till olika typer av celler har lett till stora förhoppningar om att det inom en överskådlig framtid ska finnas bot mot sjukdomar respektive möjlighet till att reparera skador där det idag inte finns någon bra behandlingsmetod. Ett exempel på ett sådant område där det idag nästan helt saknas behandlingsmöjligheter är neurotrauman, främst i sådana fall där skadorna inträffat i det centrala nervsystemet. Idag finns också en enda fungerande stamcellsterapi som också används i rutinbehandling och det är benmärgstransplantation. Även detta forskningsområde har stött på svårlösta problem och andra typer av medicinska applikationer beräknas ligga relativt långt fram i tiden.

Den bioteknologiska utvecklingen har medfört att en mängd olika biomaterial för behandling av kroppsskador är möjliga att framställa. Detta kommer att ha starka implikationer för behandling av framför allt omfattande kroppsskador där olika typer av vävnader skadats. Det område där utvecklingen kommit längst är utvecklingen av artificiellt blod. Redan idag finns prototyper som genomgår kliniska prövningar. Ett annat område under stark utveckling är framställning av artificiell hud. Genom att odla celler som behandlats på olika sätt, bl.a. med olika tillväxtfaktorer, kan artificiell hud skapas och sådan hud finns kommersiellt tillgänglig redan idag. Tillväxtfaktorer som påskyndar läkningen av sår och kroppsskador kan i ett kortare tidsperspektiv (5-10 år) också förväntas bli möjliga att tillföra direkt till en sårskada med genterapi. Redan idag pågår kliniska tester av genterapi av tillväxtfaktorer till kroniska sår. I framtiden kommer det troligen också att finnas tillgång till artificiella transplanterbara bioorgan, vilket kommer att innebära stora förbättringar vid behandling av bl.a. traumatiska kroppsskador. Även inom detta område är genterapitekniken ett viktigt redskap.

Genterapiteknik och annan genetisk manipulering är också viktig för utveckling av olika biotekniska metoder för produktion av läkemedel. Kraven ökar på kvalitet och kvantitet hos biotekniskt producerade produkter för det farmaceutiska området. Det finns idag en förhoppning att läkemedel ska kunna produceras i djur och växter där komplicerade molekyler kan ges den modifiering som gör att de accepteras som artegna produkter av människans organ och vävnader.

Bioteknikens snabba tillväxt har också genererat en mängd hypoteser för nya behandlingsvägar vid infektioner. Infektionsbehandlingen bedöms dock inom de närmaste 15 åren ske med dagens läkemedel eller smärre variationer av dessa. För behandling av bakteriella infektioner har vi sedan efterkrigstiden haft tillgång till ett flertal olika antibiotika, medan tillgången till antivirala medel har varit ytterst begränsad. Dock har det även inom det antibakteriella fältet varit svårt att få fram nya typer av antibakteriella ämnen. Detta är ett problem då utvecklingen av antibiotikaresistens har gått snabbare än vad man kunde ana. I takt med den ökande kunskapen om arvs-massan hos olika organismer samt nya tekniker för att analysera funktionen hos olika arvsanlag är förhoppningen att de sjukdomsframkallande mekanismerna ska kunna klarläggas. Detta kommer att leda till identifiering av många nya sjukdomsframkallande faktorer som är givna mål för utveckling av nya behandlingsmetoder. Parallellt erhålls troligen också en större insikt om immunförsvaret hos den infekterade värden. Ett komplement till specifik behandling av smittämnets interaktioner med värdceller kan vara att stimulera immunsvaret på ett korrekt sätt. Denna forskning kommer naturligtvis också att leda till utveckling av förbättrade vacciner. Exempel på nya forskningsområden är DNA-vacciner och behandling av infektioner genom kombinationer av substanser med olika verkningsmekanismer (t.ex. antibiotika tillsammans med inhibitorer av resistensmekanismer).

Utvecklingen av biosensorer och chipteknologi har tillsammans med den explosionsartade kunskapen om arvs-massan hos ett flertal smittämnen öppnat nya möjligheter till diagnos av infektionssjukdomar. Det är exempelvis möjligt att samtidigt mäta små förändringar i kroppen i samband med infektioner och få en helhetsbild. Specifika förändringar i mönster kan indikera en speciell infektion och denna upplysning kan erhållas innan symtomen indikerat sjukdomen. Även andra typer av sjukdomar kommer sannolikt att kunna diagnosticeras betydligt tidigare i framtiden. Det här är en utveckling som ligger långt fram i tiden. Betydligt tidigare kommer det att vara möjligt att testa en individs risk för att utveckla specifika sjukdomar, t.ex. diabetes.

Enkla tester, som riskpersoner kan utföra på sig själva, kommer att tas fram för detta ändamål. Farmakogenomikens utveckling ger information om den mest optimala behandlingen för en individ och varnar samtidigt för överkänslighet för vissa typer av farmaceutiska preparat. Det här är information som kommer att vara av stort värde för att undvika att utsätta genetiskt predisponerade individer för potentiella risker i samband med t.ex. internationella uppdrag.

Det finns ett stort behov av utveckling av små snabba instrument för att påvisa förekomst eller exponering av skadliga kemiska ämnen eller smittämnen. Under några decennier har en rad olika biosensorer utvecklats för dessa syften. Instrumenten kan hantera prover från luft, vatten, livsmedel och människor (blod, urin m.m.). Det finns goda förutsättningar att lösa de tidigare stabilitetsproblemen genom att använda nya bindande komponenter och strukturförändrade varianter. I ett kortare tidsperspektiv (5-10 år) är det möjligt att utveckla analysinstrument, t.ex. biosensorer, som samtidigt mäter förekomst av flera olika ämnen, exempelvis selekterade kemiska och biologiska stridsmedel. Betydligt mindre instrument kommer att utvecklas eftersom den teknologiska utvecklingen gör det möjligt att miniaturisera de ingående komponenterna. I nästa utvecklingsfas integreras flera olika steg i den analytiska processen till en enhet, bl.a. lab-on-a-chip, där flera olika tekniker för analys kan kombineras på en mycket liten yta. I framtiden kan kanske vattenprovtagning och analys ske i ett integrerat fältanpassat system av en CD-skivas storlek. Inom dessa områden är det uppenbart att det finns attraktiva applikationer för svenskt totalförsvaret.

Kraven ökar på att läkemedel ska administreras så effektivt som möjligt och med minsta möjliga biverkningar. Nanoteknologins frammarsch och det tvärvetenskapliga arbetssätt som präglar området har inneburit förhoppningar om nya administreringssystem för läkemedel. Utvecklingen av miniaturiserade system gör det exempelvis möjligt att i framtiden integrera biosensorer i olika övervakningssystem, kopplade till kroppsinbäddade instrument för läkemedelsadministrering. Detta skulle kunna åstadkomma kontrollerad läkemedelsdosering när nivåer av kritiska ämnen i kroppen blir för höga eller låga. Ett sådant sensorsystem kan även larma vid förändringar orsakade av exponering för skadliga ämnen och detta kan bli värdefulla verktyg för att förebygga skador.

Ett område som kommer att få betydelse för sjukvårds- och sjuktransportledning i kris- och krigssituationer är utvecklingen av personliga diagnostiska sensorer. Försök pågår inom den amerikanska marinen där den enskilde soldaten bär sensorer för bl.a. hjärt- och andningsfrekvens och för blodtryck. Via sensorerna når data till sjukvårdsledningen som mycket tidigt kan initiera relevanta åtgärder. En optimistisk prognos utlovar en prototyp om 5 år och en utprovad produkt inom 10 år. Andra potentiella resultat av dagens forskning är möjligheterna att skapa en tidsbuffert för omhändertagande av en skadad person genom att låta andning och ämnesomsättning verka på en lägre nivå, vilket på sikt kan få stor betydelse för framgångsrik behandling vid t.ex. svåra skallskador.

Utvecklingen av biomaterial har inneburit att material kan modifieras, genetiskt eller kemiskt. Det finns ett stort intresse inom textilindustrin, som ser möjligheter till framställning av lätta och tåliga textilier. Bland de mer spektakulära biomaterialen finns spindelsilket, vars extraordinära egenskaper har attraherat forskare under det senaste decenniet. Spindelsilkesfibrer kan idag produceras i bl.a. växter och bibehåller då den naturliga styrkan och elasticiteten. Problem kvarstår dock med att finna metoder för att framställa ett material som är likvärdigt med spindelns trådar. Totalförsvaret

applikationer som diskuterats är lätta och starka kläder och skyddsmaterial, bl.a. fallskärmar och skottsäkra västar. Biomaterial kan även få en framtida användning inom elektronikområdet.

En helt annan typ av biomaterial utgörs av kombinationen enzym-polymer som bl.a. kan användas i skyddskläder och vid sanering av kemiska stridsmedel. Exempelvis har återanvändbara saneringssvampar utvecklats. Försök pågår för att utnyttja konceptet genom att binda nedbrytande enzymer till textil för lätta och smidiga C-skyddsdräkter.

Utveckling och framställning av funktionell föda är ett resultat av biotekniskt inriktad forskning avseende transgena växter. Växter kan idag förses med nya arvsanlag, t.ex. för vaccinkomponenter. Framtidens vacciner skulle kunna bli ätbara och vara anpassade för den världsdelen där målgruppen lever. Funktionell föda kan också vara näringsberikad föda – människan får i sig dagsbehovet av essentiella näringsämnen i en minskad mängd föda. Dessa två koncept skulle innebära stora fördelar för människor i tredje världen, men har knappast något kommersiellt intresse. Det har däremot framställning av funktionell föda för industriländerna och då framför allt med avseende på prestationshöjning. Amerikanska armén har exempelvis i flera år bekostat forskning och utveckling av mat som innebär minskade förvaringsproblem och har högre energiinnehåll. Den enskilde soldaten ska ges förutsättningar att prestera mer och ha större uthållighet. En rad vetenskapliga rapporter har slagit fast sambandet mellan välbalanserad och näringsriktig kost och den individuella prestationen. Den fortsatta utvecklingen inom genomik och proteomik kommer att vara avgörande för att förstå betydelsen av funktionell föda på individnivå. På 10-15 års sikt finns förhoppningen att det ska vara möjligt att skräddarsy individanpassad kost för vistelse i specifika miljöer. Genom genetiska förändringar kan också skördar av exempelvis säd ökas. Detta har ett globalt intresse och flera applikationer finns idag men inget är ännu kommersiellt tillgängligt.

En attraktiv applikation av bioteknik är sanering av förorenade områden. Idag finns god kunskap om hur miljögifter kan oskadliggöras av mikroorganismer, som kan ta upp ett kemiskt ämne och bryta ned det till harmlösa avfallsprodukter. Mikroorganismer som naturligt har enzymssystem för detta kan genetiskt modifieras i syfte att optimera nedbrytningen. Begränsningar för konceptet är att starkt förorenade miljöer kan vara för toxiska och att tillförda organismer påverkar den naturliga mikrofloran på något negativt sätt eller att de förökas okontrollerat. På 10 till 15 års sikt är det troligt att det finns ett antal kandidater med hög nedbrytningskapacitet, som är anpassade för vissa miljösaneringssituationer.

Ett relativt nytt biosaneringskoncept är att finna växter som har anpassat sig till en hög föroreningsgrad samt har förmåga att ta upp föroreningar genom rötterna och lagra dessa i växten. Dessa växter kan i likhet med mikroorganismerna modifieras genetiskt till en förbättrad förmåga att ta hand om miljöföroreningar. En variant är att växter tar bakterier till hjälp för upptag av miljögifter. En fortsatt utveckling med koppling till bioteknik bedöms ske parallellt med de generella framstegen avseende transgena växter generellt.

Forskningen kring nya energikällor har exemplifierats i rapporten med vätgasproducerande mikroorganismer som modifierats med gentekniska metoder. Det är en relevant applikation att bedöma ur biotekniskt perspektiv. I likhet med andra alternativa energibärare som diskuteras idag ligger dock ett genomarbetat koncept för använd-

ning i praktiken mycket långt fram i tiden och bedöms inte vara aktuell inom den här givna 15-årsperioden.

Det ökade behovet av datorkraft har resulterat i en utveckling mot allt mindre strukturer där bl.a. biologiska molekyler kan bli byggstenar i data och minneschip. Biologiska byggstenar ingår i levande system som alltså kan bli förebilder för framtidens datorer. Dagens forskning strävar efter en ökad förståelse av dubbelriktat informationsutbyte mellan artificiella och biologiska system. Det går idag att artificiellt koppla signaler till/från en hjärna och perifera enheter, t.ex. en muskel, vilket kommer att följas av avancerade försök med proteser. Även andra typer av sinnesintryck, t.ex. från känsel, syn och hörsel, kommer i framtiden att kunna kopplas på artificiell väg. På sikt kommer kontrollsystem för biologiska funktioner att utvecklas och detta leder till utveckling av kommunikationssystem för neurala funktioner. Men det återstår en mycket lång väg innan det är möjligt att utveckla en artificiell hjärnfunktion med den biologiska hjärnans processorkapacitet. De applikationer som ligger närmast i tiden (på 5 års sikt) är kroppsinbäddade komplexa sensorer för medicinsk diagnos och för styrning av specifika biologiska funktioner. Nerver kommer att kunna kopplas till mikroelektronik för styrning av proteser via sinnesintryck. I nästa steg kommer vi att se utvecklingen av avancerad cell-till-chip kommunikation med kopplade biologiska och nanoelektroniska system, bl.a. kontrollsystem för felfunktioner. Långt senare kan konstgjorda sinnesorgan bli verklighet.

I rapporten presenteras en mängd spännande potentiella utvecklingslinjer och applikationer. Merparten av dessa applikationer ger oss nya aspekter på de möjligheter som framtiden erbjuder. Det har varit ett grannlaga arbete att utifrån all denna information finna de applikationer som förefaller mest sannolika i ett 15 års tidsperspektiv. I tabellen nedan presenteras en bedömning av de totalförsvarsapplikationer som prioriterats från det genomgångna materialet.

Tabell 5. Applikationer för totalförsvaret

Applikation	Prognos om 5 år	Prognos om 10 år	Prognos om 15 år	Kapitelhänvisning
<i>Sensorer</i>				
Lab-on-chip, biochip för identifiering av biologiska och kemiska agens	Forskningsstadium	Prototyp	Kommersiellt tillgänglig	2.6, 3.2
Kroppsinbäddade sensorer för exponering av C-stridsmedel	Forskningsstadium	Forskningsstadium	Prototyp	3.1
<i>Nya material</i>				
Svampar för sanering av C-stridsmedel	Kommersiellt tillgängliga			6
Skyddsmaterial av spindelsilke	Forskningsstadium	Prototyper	Kommersiella produkter	6
Prestationshöjande föda	Forskningsstadium	Kliniska försök	Individuellt anpassat	4.2
<i>Behandlingsmetoder</i>				
Kroppsinbäddade sensorer kopplade till distribution av läkemedel	Forskningsstadium	Kliniska försök	Utveckling av prototyp	2.5, 7
Artificiella sinnesorgan, t.ex. för hörsel och syn	Forskningsstadium	Kliniska försök	Prototyper	7
Artificiell hud för behandling av sår	Kliniska försök	Kommersiellt tillgänglig		5.6
Bioorgan, vävnader	Forskningsstadium	Prototyper	Kommersiellt tillgängliga	5.5, 5.6
Artificiellt blod	Prototyp	Kommersiellt tillgängligt		5.5
Biotekniskt framställda läkemedel, exempelvis tillväxthormoner	Kommersiellt tillgängliga			2.4
Orala och DNA-vacciner	Forskningsstadium	Kliniska försök	Kommersiella	4.1
Genterapi för traumatiska skador	Forskningsstadium	Kliniska försök	Kliniska försök	2.3, 5.5, 5.7

Tack

Ett stort tack till Maiken Karlsson som med ett glatt humör åtagit sig att redigera denna rapport. Karin Hjalmarsson har gett oss utmärkta synpunkter som opponenter av rapporten. Åke Forsberg, Sture Sundström, Elisabeth Frithz och Åsa Lundvall har på olika sätt också bidragit till denna rapport. Vi vill också tacka Carin Stenlund som varit de olika författarna behjälplig med underlag samt korrigerat litteraturlistan.

Bilaga 1. Ordlista

- Adsorption** – upptag (bindning) till en yta
- Affinitet** - benägenhet att kemiskt reagera med annat ämne
- Alveol** – lungans finaste luftrörsförgrening
- Antibiotika** – antibakteriellt medel, stoppar tillväxt eller dödar bakterien
- Antikropp** - protein som produceras av kroppens immunförsvar och som har till uppgift att verka mot för kroppen främmande ämnen, antigener
- Antiviralt medel** – förhindrar virus tillväxt
- Aptamer** – kort nukleinsyrasträng som specifikt binder till molekyler och partiklar
- B- och toxinvapenkonventionen (BTWC)** - internationellt avtal som förbjuder utveckling, produktion och lagring av B- och toxinvapen. Trädde i kraft 1975 och 143 stater är anslutna.
- Biochip** – biosensor för att samtidigt mäta en stor mängd parametrar
- Bioinformatik** – datorstödd hantering och analys av DNA-, RNA- och proteinsekvensdata
- Biomaterial** - ersättningsmaterial som används i kroppen eller biotekniskt framställt artificiellt material av biologiskt ursprung
- Bioregulatorer** – kroppsegna substanser som reglerar biokemiska och fysiologiska processer hos människa
- Biotronik** – integrering av biologiska, mekaniska, elektroniska, optiska och kemiska system till system med specifika funktioner
- B-stridsmedel** - utgörs av levande organismer, främst mikroorganismer (bakterier, virus eller mikrosvampar), avsedda att vålla sjukdom eller död bland människor, djur eller växter.
- Cellkultur** – kontinuerligt växande celler (cellinje)
- Degeneration** - omvandling av celler, vävnader eller organ så att funktionen nedsätts eller upphör
- Desorption** - desorption innebär att molekyler som är fysikaliskt bundna (adsorberade) till ytan av ett fast ämne avlägsnas t.ex. genom temperaturhöjning eller genom att de upptas av en förbiströmmande vätska eller gas
- DNA** – deoxyribonukleinsyra, arvsassemolekyl
- DNA-vaccin** – består av arvsanlag/delar av arvsanlag som inducerar skydd efter vaccinering
- Dual-use** – dubbelanvändning, även benämnt PDA, produkter med dubbel användning
- Embryonal** – har att göra med embryon, dvs. ett tidigt utvecklingsstadium

Enzym - ämne som katalyserar kemiska reaktioner i levande organismer

Eukaryota organismer - grupp organismer med kärnförsedda celler. Till de eukaryota organismerna räknas djur, växter, svampar, alger och encelliga djur

Expressionssystem – system där ett rekombinant protein framställs

Expressionsvektor – bärare av genetiskt material för ett rekombinant protein

Farmakogenomik - genuttrycket vid behandling med läkemedel

Fluorescens – utsändande av ljus

Funktionell föda (livsmedel) - livsmedel som påstås ha hälsobringande effekter, genom modifiering för att ge vissa bestämda fördelar, t.ex. berikning med vitaminer, mineral och fibrer

Gen – informationsbärande enhet i arvsmassan

Genetiska vacciner – innehåller arvsmassa i form av DNA eller RNA

Genetiskt stridsmedel – verkar direkt på arvsmassan och/eller dess informationsöverföring

Genom – arvsmassa hos en organism

Genomik – det totala genuttrycket vid ett visst tillfälle

Genteknik – teknik som möjliggör ingrepp i arvsmassan hos levande organismer

Genterapi - ingrepp i arvsmassan i syfte att reparera en skadad gen

Heterolog - artfrämmande, olikartad, kommande från annat håll

Immunoassay – immunologiskt baserad mätmetod

Immunoregulator – signalämne i immunsystemet

Implantat - material som har planterats in i kroppen som ersättning för något som inte längre fungerar

Inhalator - apparat som innehåller finfördelat läkemedel och kan föras upp i näsan för inhalering ofta genom sprejning

Komponentvaccin – vaccin bestående av komponenter (proteiner) från ett smittämne

Lipofil - fettlöslig

Liposom – sfärisk partikel uppbyggd av ett dubbelt fettlager

Lymfkörtel – körtel i lymfsystemet

Metabolism – ämnesomsättning

Metabolomet – koncentration av metabola produkter

Metabolomics – studier av metabola processer med hjälp av proteomik

Molekylelektronik – molekyler integreras i system för elektronik och informationsbehandling

Monoklonal antikroppar – identiskt lika antikroppar som producerats av celler som ursprungligen kommer från en och samma cell, dvs. en klon

Mutation – förändring i det genetiska materialet

Neuron - nervcell, cell som skapar och förmedlar impulser i nervsystemet

Nukleotid - byggsten i arvs massa (DNA, RNA)

Orala vacciner – vacciner som tillförs via munnen

Patogen – sjukdomsframkallande

Peptid - kemisk förening som består av två eller flera aminosyror. En dipeptid består av två aminosyror, en tripeptid av tre osv. Oligopeptider innehåller upp till 10-20 aminosyror och de med fler kallas polypeptider

Polymer - syntetiskt eller naturligt, oftast organiskt ämne som består av kedjeformiga molekyler

Polymorfism – skillnader mellan individer avseende exempelvis DNA-profil som fungerar som markörer för olika egenskaper

Profylaktisk – medicinering i förebyggande syfte

Prokaryota organismer – organismer med en mer primitiv organisationsnivå, saknar membranavgränsad cellkärna, t.ex. bakterier

Proteinchip – affinitetsyta med bundna proteiner vilka specifikt kan binda ett smittämne eller ett toxin

Proteiner - äggviteämnen, makromolekyler uppbyggda av aminosyror sammanbundna till kedjor

Proteomik – studier av de slutgiltiga produkterna (proteinerna) från arvs massan

Receptor - molekyler på cellers yta med uppgift är att fånga upp och överföra signaler

Regeneration - den process genom vilken förlorad vävnad ersätts genom nybildning av strukturellt och funktionellt identiska celler

Rekombinant – DNA-molekyl som framställts på konstgjord väg med DNA från olika källor

RNA – ribonukleinsyra, arvs massemolekyl

Sekvensera – kartlägga DNA-sekvensen, dvs. byggstenarnas inbördes ordning

Sepsis - blodförgiftning

Stamceller - omogna celler som genom delningar ger upphov till mer differentierade celler, t.ex. organspecifika celler

Stamcellsplasticitet - förmåga att differentieras

Synaps - kontaktställe där en nervimpuls överförs från en nervcell till en annan cell

Syndrom - en grupp av sjukdomssymtom som hör ihop och som uppträder tillsammans hos en och samma patient mer frekvent än som kan förklaras av slumpen

Toxin – giftigt ämne som bildas av bakterie, svamp, alg, växt eller djur

Transgen – växt eller djur med egenskaper (gener) från annan art

Trauma - påverkan av människokroppen förorsakad av yttre faktorer och/eller händelser som ger en övergående eller kvarstående effekt

Vektor - bärare

Virulent - sjukdomsframkallande

Bilaga 2. Litteratur

1 Inledning

Stone, R. och Frank, L. (2001). Karolinska Inc. *Science*, **293**:2374-76.

Frank, L. (2002). Biotechnology in the Medicon valley. *Nat. Biotechnol.* **20**:433-35.

Alper, J. (2002). The rise of the European bioentrepreneur. *Nat. Biotechnol. Suppl.* **20**:BE3-5.

2 Aktuell forskning inom det biotekniska fältet – Grundläggande tekniker och begrepp

2.1 Kartläggning av arvs massa och funktionsgenomisk forskning ger kunskap om komplexa biologiska system

Bassingthwaite, J. B. (2000). Strategies for the physiome project. *Ann. Biomed. Eng.*, **28**:1043-58.

Cello, J., Paul, V. och Wimmer, E. (2002). Chemical synthesis of poliovirus cDNA: Generation of infectious virus in the absence of natural template. *Science*, **297**:1016-18.

Check, E. (2002). Venter aims for maximum impact with minimal genome. *Nature*, **28**:350.

Fraser, C. M. et al. (2000). Microbial genome sequencing. *Nature*, **406**:799-803.

Functional Genomics (2000). *Nature*, **405**:819-65.

Gifford, D. K. (2001). Blazing pathways through genetic mountains. *Science*, **293**:2049-51.

Holtorf, H. et al. (2002). Plant functional genomics. *Naturwissenschaften*, **89**:235-49.

Goodman, N. (2002). Biological data becomes computer literate: new advances in bioinformatics. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **13**:68-71.

Hutchison, C.A. et al. (1999). Global transposon mutagenesis and a minimal *Mycoplasma* genome. *Science*, **286**:2165-69.

Kihlberg, B. (2002). Arvsanlagen hos *Yersinia pestis* är nu kartlagda i detalj - Möjligheter och risker. *NBC-/Bioteknik orientering*, FOI nr 25 (mars). www.foi.se

Lander, E. S. et al. (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, **409**:860-921.

Nierman, W. et al. (2000). Microbial genome sequencing 2000: new insights into physiology, evolution and expression analysis. *Res. Microbiol.*, **151**:79-84.

Parkhill, J. et al. (2001). Genome sequence of *Yersinia pestis*, the causative agent of plague. *Nature*, **413**:523-27.

Waterstone, R.H. et al. (2002). Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature*, **420**:520-62.

Venter, J. C., et al. (2001). The sequence of the human genome. *Science*, **291**:1304-51.

2.2 Stamceller

Doetschman, D. et al. (1985). The in vitro development of blastocysts-derived embryonic stem cell lines: formation of visceral yolk sac, blood islands and myocardium. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **87**:27-45.

Edwards, R. (2001). IVF and the history of stem cells. *Nature*, **413**:349-51.

Evans, M. och Kaufman, M. (1981). Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*, **292**:154-56.

Holden, C. och Vogel, G. (2002). Stem cells. Plasticity: Time for a reappraisal? *Science*, **296**:2126-29.

Keller, G. (1995). In vitro differentiation of embryonic stem cells. *Curr. Opin. Cell Biol.*, **7**:862-69.

Martin, G. (1981). Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **78**:7634-38.

McKay, R. (2000). Stem cells-hype and hope. *Nature*, **406**:361-64.

Pinto do Ó, P. et al. (1998). Expression of the LIM-homeobox gene LH2 generates immortalized steel factor-dependent multipotent hematopoietic precursors. *EMBO J.*, **17**:5744-56.

Shamblott, M. et al. (1998). Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **95**:13726-31.

Thomson, J. et al. (1998). Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, **282**:1145-47.

2.3 Genterapi

Griesenbach, U. et al. (2002). Gene therapy progress and prospects: Cystic fibrosis. *Gene Ther.*, **9**:1344-50.

Haseltine, A. William. (2000). The case for gene patents. *Technol. Rev.*, **103**:59.

Mah C, et al. (2002). Virus-based gene delivery systems. *Clin. Pharmacokinet.*, **41**:901-11.

Miake J, et al. (2002). (Gene therapy:) Biological pacemaker created by gene transfer. *Nature*, **419**:132-33.

2.4 Produktionssystem för läkemedel, vacciner och funktionell föda

Demain, A.L. (2000). *Trends in Biotechnol.*, **18**:26-31.

Demain, A.L. (2001). (Genetics and microbiology of industrial microorganisms:) Molecular genetics and industrial microbiology – 30 years of marriage. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **27**:352-56.

Ailor, E. och Betenbaugh, M.J. (1999). Modifying secretion and post-translational processing in insect cells. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **10**:142-45.

Daniell, H. et al. (2001). Medical molecular farming: production of antibodies, biopharmaceuticals and edible vaccines in plants. *Trends Plant Sci.*, **6**:219-26.

Daniell, H. et al. (2002). Milestones in chloroplast engineering: an environmentally friendly era in biotechnology. *Trends Plant Sci.*, **7**:84-91.

Larrick, J.W. och Thomas, D.W. (2001). Producing proteins in transgenic plants and animals. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **12**:411-18.

2.5 Administreringssystem för läkemedel

Cullen, T. Vogelsson. (2001). Advances in drug delivery systems. *Mod. Drug Discov.*, **4**:49-50, 52.

Hoffman, A.S. (2002). Hydrogels for biomedical applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **54**:3-12.

Joshi, A. och Raje, J. (2002). Sonicated transdermal drug transport. *J. Control Release*, **83**:13-22.

Majeti N. V. och Kumar R. (2000). Nano and microparticles as controlled drug delivery devices. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, **3**:234-58.

Santini, J.R. et al. (1999). A controlled-release microchip. *Nature*, **397**:335-38.

2.6 Nanoteknologi

Koper, O. et al. (1993). Destructive adsorption of chlorinated hydrocarbons on ultrafine (nanoscale) particles of calcium oxide. *Chem. Mater.*, **5**:500-05.

Moore, A. (2001). Brave small world. *EMBO Rep.*, **21**:86-88.

National Nanotechnology Initiative. (2000). The initiative and its implementations plan. National Science and Technology Council Committee on Technology, Subcommittee on Nanoscale Science, Engineering and Technology.

- Rouvray, D. (2000). Is the future nano?. *Chem. Br.*, **36**:46-47.
- Seeman, N. (1999). DNA engineering and its applications to nanotechnology, *Trends Biotechnol.*, **17**:437-43.
- Smith, R. (2001). Nanotechnology. *Modern Drug Discovery*, **4**:32-34.
- West, J L. och Halas, N. (2000). Applications of nanotechnology to biotechnology, *Curr. Opin. Biotechnol.*, **11**:215-17.

3 System för att påvisa, identifiera och mäta substanser och organismer

3.1 Biosensorer

- Analyte 2000 och Raptor, <http://www.resrchintl.com>
- Anderson, G. P. et al. (2000). Raptor: A portable, automated biosensor. Proceedings of the first conference on point detection for chemical and biological defence.
- Bilitewski, U. och Turner, A. P. F. (2000). Biosensors for environmental monitoring. Overseas Publishers Association (OPA), Amsterdam, The Netherlands.
- D'Souza, S.F. (2001). Microbial biosensors. *Biosens. Bioelectron.*, **16**:337-53.
- Glucowatch, <http://www.cygn.com/homepage.html>
- Ivnitski, D. et al. (1999). Biosensors for detection of pathogenic bacteria. *Biosens. Bioelectron.*, **14**:599-624.
- Kriz, D. et al. (1997). Molecular imprinting, new possibilities for sensor technology. *Anal. Chem.*, **69**:345A-49A.
- Liang, J. F. et al. (2000). Biomedical application of immobilized enzymes. *J. Pharm. Sci., Sc* **89**:979-89.
- Luppa, P.B. et al. (2001). Immunosensors-principles and applications to clinical chemistry. *Clin. Chim. Acta* **314**:1-26.
- Mello, L. D. och Kubota, L. T. (2002). Review of the use of biosensors as analytical tools in the food and drink industries. *Food Chem.*, **77**:237-56.
- Nirmalya, K. C. och Vijayamohan, K. (2002). Self-assembled monolayers as a tunable platform for biosensors applications. *Biosens. Bioelectron.*, **17**:1-12.
- O'Sullivan, C. K. (2002). Aptasensors - the future of biosensing? *Anal. Bioanal. Chem.*, **372**:44-48.
- Rogers, K. R. (2000). Principles of affinity-based biosensors. *Mol. Biotechnol.*, **14**:109-29.
- Rosen, S. (1995). Biosensors: Where do we go from here? *MLO Med. Lab. Obs.*, **27**:24-29.

4 Förebyggande medicinsk behandling och prestandshöjande åtgärder

4.1 Vaccinutveckling för framtiden

- Behr, M.A. (2001). Correlation between BCG genomics and protective efficacy. *Scand. J. Infect. Dis.*, **33**:249-52.
- Burton, D. R. (2002). Antibodies, viruses and vaccines. *Nat. Rev. Immunol.*, **2**:706-13.
- Dus Santos, M.J. et al. (2002). A novel methodology to develop a foot and mouth disease virus (FMDV) peptide-based vaccine in transgenic plants. *Vaccine*, **20**:1141-47.
- Friedlander, A.M. et al. (2002). Anthrax vaccines. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **271**:33-60.
- Kong et al, (2001). Oral immunization with hepatitis B surface antigen expressed in transgenic plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **98**:11539-44.
- Olive, C. et al. (2001). Technological advances in antigen delivery and synthetic peptide vaccine development strategies. *Mini Rev. Med. Chem.*, **1**:429-38.

Price, B.M. et al. (2001). Protection against anthrax lethal toxin challenge by genetic immunization with a plasmid encoding the lethal factor protein. *Infect. Immun.*, **69**:4509-15.

Sacksteder, K. A. och Nacy, C. A. (2002). New tuberculosis vaccine development. *Expert. Opin. Biol. Ther.*, **2**:741-49.

Williamson, E.D. och Titball, R.W. (2002). Vaccines against dangerous pathogens. *Br. Med. Bull.*, **62**:163-73.

4.2 Funktionell föda

Committee on military nutrition research: Activity Report 1994-1999. (1999) *Institute of medicine, National Academy of Science, U.S.A.*

Committee on military nutrition research: Caffein for the sustainment of mental task performance: Formulations for military operations (Summary). (2001) *Institute of medicine, National Academy of Science, U.S.A.*

Daniel, H. (2002). Genomics and proteomics: Importance for the future of nutrition research. *Br. J. Nutr.*, **87** Suppl. 2, 305-11.

Guengerich, F. P. (2001). Functional genomics and proteomics applied to the study of nutritional metabolism. *Nutr. Rev.*, **59**:259-63.

Jones, P. J. (2002). Clinical nutrition: 7. Functional foods – more than just nutrition. *CMAJ*, **166**:1555-63.

Mermelstein, N. H. (2001). Military and humanitarian rations. *Food Technol.*, **55**:73-75.

Palevitz, B. A (2001). Society honors golden rice inventor. *Scientist*, **15**:8 (News).

Theo Verrips, C. et al. (2001). General introduction to the importance of genomics in food biotechnology and nutrition. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **12**:483-87.

Ye, X., Al-Babali et al. (2000). Engineering the provitamin A (β -carotene) biosynthetic pathway into (caretenoid-free) rice endosperm. *Science*, **287**:303-05.

5 Behandling av infektioner, förgiftningar, sår-, kropps- och nervskador

5.1 Den framtida sjukdomsdiagnosen

Relman, D. A. (2002). The human body as microbial observatory. *Nat. Genet.*, **30**:131-33.

Relman, D. A. (1999). The search for unrecognized pathogens. *Science*, **284**:1308-10.

Thomas, G. H. (2001). Metabolomics break the silence. *Trends in Microbiol.*, **9**:158.

5.2 Farmakogenomik

Collins, S. F. (7/20/2000). Genetic information in the workplace. FDCH Congressional Testimony. Washington, DC: eMedia Works, Inc.

Ferentz, A.E. (2002). Integrating pharmacogenomics into drug development. *Pharmacogenomics*, **3**:453-67.

Filmore, D. (2001). Taming the Beast, *Mod. Drug Discov.*, **4**:40–42, 44, 46.

Gambari ,R. (2001). Biospecific interaction analysis: a tool for drug discovery and development. *Am. J. Pharmacogenomics*, **1**:119-35.

Martin, E. R et al. (2000). SNPing away at complex diseases: Analysis of single-nucleotide polymorphisms around APOE in Alzheimer's disease. *Am. J. Hum. Genet.*, **67**:383–94.

5.3 Behandling av infektioner

- Chien, J.W. et al. (2000). Use of linezolid, an oxazolidinone, in the treatment of multidrug-resistant gram-positive bacterial infections. *Clin. Infect. Dis.*, **30**:146-51.
- Hannon, G.J. (2002) RNA interference. *Nature*, **418**(6894):244-51.
- Jacque, J.M. et al. (2002). Modulation of HIV-1 replication by RNA interference. *Nature*, **418**:435-38.
- De Clercq, E. (2002). Strategies in the design of antiviral drugs. *Nat. Rev. Drug Discov.* **1**:13-25.
- Opalinska, J.B. och Gewirtz A.M. (2002). Nucleic-acid therapeutics: basic principles and recent applications. *Nat. Rev. Drug Discov.* **1**:503-14.
- Projan, S. (2002). New (and not so new) antibacterial targets - from where and when will the novel drugs come? *Curr Opin Pharmacol.* **2**(5):513
- Read, T.D. et al. (2001) Finding drug targets in microbial genomes. *Drug Discov. Today* **6**:887-92.
- Shuey, D.J. et al. RNAi: Gene-silencing in therapeutic intervention. *Drug Discov. Today* **7**:1040-46.
- Zasloff, M. (2002) Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature* **415**:389-95.
- van der Poll, T. (2001) Immunotherapy of sepsis. *Lancet Infect. Dis.*, **1**:165-74.
- Walsh, C. (2000). Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature*, **406**:775-81.

5.4 Bioteknik och kemiska exponeringar

- Bellingan, G.J. (2002). The pulmonary physician in critical care 6: The pathogenesis of ALI/ARDS. *Thorax*, **57**:540-46.
- Brower, R.G. et al. (2001). Treatment of ARDS. *Chest*, **120**:1347-67.
- Jantz, M.A. och Sahn S.A. (1999). Corticosteroids in acute respiratory failure. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **160**:1079-1100.
- Karalliedde et al. (2000). Possible immediate and long-term health effects following exposure to chemical warfare agents. *Public Health*, **114**:238-48.
- Leikauf, G.D. et al. (2002). Functional genomics of oxidant-induced lung injury. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **500**:479-87.
- Suntres, Z.E. och Shek, P.N. (1996). Treatment of LPS-induced tissue injury: role of liposomal antioxidants. *Shock*, **6**:57-64.
- Suntres, Z.E. och Shek, P.N. (1997). Protective effects of liposomal α -tocopherol against bleomycin-induced lung injury. *Biomed. Environ. Sci.*, **10**:47-59.
- Tasaka, S. et al. (2002). Pharmacology of acute lung injury. *Pulm. Pharmacol. Ther.*, **15**:83-95.

5.5 Bioteknik och traumatiska kroppsskador

- Amiel, G.E et al. (2001). Tissue engineered stents created from chondrocytes. *J. Urol.*, **165**:2091-2095.
- Bordenave, L. et al. (1999). Clinical performance of vascular grafts lined with endothelial cells. *Endothelium*, **6**:267-75.
- Breitbart, A.S. et al. (1999). Gene-enhanced tissue engineering: applications for wound healing using cultured dermal fibroblasts transduced retrovirally with the PDGF-B gene. *Ann. Plast. Surg.*, **43**:632 – 639.
- Carpenter, J.E. et al. (1999). Animal models of tendon and ligament injuries for tissue engineering applications. *Clin. Orthop.*, **367**:296-311.
- Chang, T.M. (2000). Artificial cell biotechnology for medical applications. *Blood Purif.*, **18**:91-96.
- Cooper, G.J.D. et al. (1997). Scientific Foundations of trauma. Oxford: Butterworth-Heineman.

- Darville, T. et al. (1993). The systemic inflammatory response syndrome (SIRS): immunology and potential immunotherapy. *Infection*, **21**:279-90.
- Hagvall, S.H. och Risberg, B. (2001). A co-culture model of endothelial- and smooth muscle cells for use in the investigation of tissue engineered blood vessels. Proc. 31st Annual Meeting of the Nordic Society for Microcirculation, Geilo, Norway, January 25-28.
- Helenius, G. et al. (2001). Co-culture of endothelial and smooth muscle cells alters their gene expression of uPA and PAI-1. Proc. 31st Annual Meeting of the Nordic Society for Microcirculation, Geilo, Norway, January 25-28.
- Hudson, T.W. et al. (1999). Engineering strategies for peripheral nerve repair. *Clin. Plast. Surg.*, **26**:617-28.
- Johnstone, B. och Yoo, J.U. (1999). Autologous mesenchymal progenitor cells in articular cartilage repair. *Clin. Orthop.*, **367**:156-162.
- Kenley, R.A. et al. (1993). Biotechnology and bone graft substitutes. *Pharm. Res.*, **10**:1393-401.
- Kjellström, B.T. (1997). Krigssjukvården behöver en förnygringskur för att klara av det fragmenterade kriget. *FOA-Tidningen*, **5/6**:26-29.
- Kjellström, B.T. (editor). (1998). Inverkan av nedkylning på den skadade individen – sammanfattning av ett symposium. FOA-R--98-00679-721--SE.
- Madhok, R. et al. (2000). Recent advances: rheumatology. *BMJ*, **321**:882-85.
- Maguire, P.J. et al. (2000). Bioartificial organ support for hepatic, renal and hematologic failure. *Crit. Care Clin.*, **16**:681-94.
- Marion, D.W. et al. (1997). Treatment of traumatic brain injury with moderate hypothermia. *New Engl. J. Med.*, **336**:540-46.
- Persson, J.K.E. et al. (2001). Jämförelse mellan limning och suturering av regenerationsförmågan hos delad perifer nerv på vuxen rätta. FOI-R--0031--SE.
- Phillips, T.J. och Gilchrest, B.A. (1991). Cultured epidermal allografts as biological wound dressings. *Prog. Clin. Biol. Res.*, **365**:77-94.
- Rodkey, W.G. et al. (1999). A clinical study of collagen meniscus implants to restore the injured meniscus. *Clin. Orthop.*, **367**:281-92.
- Villar, J. och Slutsky, A.S. (1993). Effects of induced hypothermia in patients with septic adult respiratory distress syndrome. *Resuscitation*, **26**:183-92.
- Woo, S.L. et al. (1999). Tissue engineering of ligament and tendon healing. *Clin. Orthop.*, **367**:312-23.

5.6 Behandling av sårskador

- Browne, A. et al. (2001.) Infected wounds: definitions and controversies. *Cutaneous wound healing*, Falanga V. ed. Martin Dunitz Ltd, London: 203-219.
- Ebers papyrus (1550 f.Kr.).
- Falanga, V. och Sabolinski, M. (1999). A bilayered living skin construct (APLIGRAF) accelerates complete closure of hard-to-heal venous ulcers. *Wound Repair Regen.*, **7**:201-07.
- Faresjö, T. et al. (1996). Bensårsbehandling dyrare än väntat. *Läkartidningen*, **93**:1355-57.
- Gerdin, B. (2001). Om brännskador. *Brännskadeenheten Akademiska Sjukhuset*. <http://hpo.uas.se/>
- Gilje, O. (1948). Ulcus cruris in venous circulation disturbances: investigations of etiology, pathogenesis and therapy of leg ulcers. *Acta Derm. Venereol.*, **28**:454-67.
- Gottrup, F. (1996). Moderne sårbehandling. *Nord. Med.*, **5**:135-38.
- Hansson, C. (1995). Microbial flora in venous leg ulcers and choice of treatment. *Treatment of venous leg ulcers.*, Läkemedelsverket **5**:139-48
- Hansson, C., Faergemann, J. (1995). The effect of antiseptic solutions on microorganisms in venous leg ulcers. *Acta Derm. Venereol.*, **75**:31-33.

<http://www.clinicaltrials.gov>, search word "leg ulcer" (2002-08-26)

Läkemedelsverket. Treatment of venous leg ulcers. Recommendations, 5:9-32.

Nelzen, O. et al. (1991). Leg ulcer etiology, a cross sectional population study. *J. Vasc. Surg.*, **14**:557-64.

Sabolinski, M.L. och Bilbo, P.R. (ed. 2001.) The clinical experience of bioengineered skin products. *Cutaneous wound healing*. Falanga V. Martin Dunitz Ltd, London, p. 411-32.

Winter, G.D. (1962). Formation of scab and the rate of epithelialization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. *Nature*, **193**:293-94.

5.7 Behandling av traumatiska skador i nervsystemet

Bullock, M.R. et al. (1999). Current status of neuroprotection trials for traumatic brain injury: lessons from animal models and clinical studies. *Neurosurgery*, **45**:207-17.

Dumas, T.C. et al. (2001). Gene therapy against neurological insults: sparing neurons versus sparing function. *Trends Neurosci.*, **24**:695-700.

Faden, A.I. (2001). Neuroprotection and traumatic brain injury: the search continues. *Arch. Neurol.*, **58**:1553-55.

Maas, A.I et al. (2000). Current recommendations for neurotrauma. *Curr. Opin. Crit. Care*, **6**:281-92.

Narayan, R.K. et al. (2002). Clinical trials in head injury. *J. Neurotrauma*, **19**:503-57.

Nguyen, M.D. et al. (2002). Innate immunity: the missing link in neuroprotection and neurodegeneration? *Nat. Rev. Neurosci.*, **3**:216-27.

Piehl, F. et al. (2002). Neuroinflammation in the rat-CNS cells and their role in the regulation of immune reactions. *Immunol. Rev.*, **184**:212-25.

Schwartz, M. (2001). Harnessing the immune system for neuroprotection: therapeutic vaccines for acute and chronic neurodegenerative disorders. *Cell Mol. Neurobiol.*, **21**:617-27.

Sofroniew, M.V. et al. (2001). Nerve growth factor signaling, neuroprotection, and neural repair. *Ann. Rev. Neurosci.*, **24**:1217-81.

6 Utveckling av biomaterial

Ahländsberg, S. (2001). Metabolic engineering of starch synthesis in barley, Doctoral thesis, Stockholm University.

Alazaris, A. et al. (2002). Spider silk fibers spun from soluble recombinant silk produced in mammalian cells. *Science*, **295**:472-76.

Artursson, E. et al. (2001). Enzym-polymer material för nedbrytning av nervgaser; Tillämpningar inom skydd och sanering. *NBC-/bioteknik orientering*, Nr 22.

http://www.foi.se/raw/images/2758_bioteknik22.pdf.

Bakker, M. et al. (2000). Highly efficient immobilization of glycosylated enzymes into polyurethane foams. *Biotechnol. Bioeng.*, **70**:342-48.

Cho, C. et al. (2002). Bacterial cell surface display of organophosphorus hydrolase for selective screening of improved hydrolysis of organophosphorus nerve agents. *Appl. Environ Microbiol.*, **68**:2026-30.

Ember, L. (1997). Detoxifying nerve agents. *Chem. Eng. News*, **157**:26-29.

Gill, I. et al. (2000). Degradation of organophosphorus nerve agents by enzyme-polymer nanocomposites: Efficient biocatalytic materials for protection and large-scale detoxification. *Biotechnol. Bioeng.*, **70**:400-10.

Koper, O. et al. (1999). Development of reactive topical skin protection against sulphur mustard and nerve agent. *Appl. Toxicol.*, **19**:59-70.

- LeJeune, K. et al. (1998). Fighting nerve agent chemical weapons with enzyme technology. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **864**:153-70.
- Medlin, J.F. (1998). "Super Sponges". *Environ. Health Perspect.*, **106**:A128-84.
- Mulchandani, A. (1999). Detoxification of organophosphate nerve agents by immobilized *Escherichia coli* with surface-expressed organophosphorus hydrolase. *Biotechnol. Bioeng.*, **63**:63216-23.
- Petersen, K. et al. (1999). Potential of biobased material for food packaging, *Trends Food Sci. Technol.*, **10**:52-60.
- Puu, G. (2000). Genetiskt modifierade enzym för nedbrytning av nervgaser, *NBC-/bioteknik orientering*, Nr 20. http://www.foi.se/raw/images/2758_bioteknik20.pdf.
- Richardson, P. H. et al. (2000). High-amylose starches: From biosynthesis to their use as food ingredients, *MRS Bull.* **25**:10-24.
- Richins, R. D. et al. (2000). Expression, immobilization and enzymatic characterization of cellulose-binding domain-organophosphorus hydrolase fusion enzymes. *Biotechnol. Bioeng.*, **69**:591-96.
- Scheller, J. et al. (2001). Production of spider silk proteins in tobacco and potato. *Nat. Biotechnol.*, **19**:73-77.
- Tirrell, D. A. (1996). Putting a new spin on spider silk. *Science*, **271**:39-40.
- Vollrath, F. och Knight, P. D. (2001). Liquid crystalline spinning of spider silk. *Nature*, **410**:541-48.

7 Molekylär elektronik

- Ananthaswamy, A. (2002). Mind over metal, *New Sci.*, **23**:27-29.
- Besl, B. och Fromherz, P. (2002). Transistor array with organotypic brain slice, field potential records and synaptic currents. *Eur. J. Neurosci.*, **15**:999-1005.
- DeMarse, T. B. et al. (2001). The neurally controlled animat: Biological brains acting with simulated bodies. *Autonom. Rob.*, **11**:305-10.
- Fromherz, P. (2002). Electrical interfacing of nerve cells and semiconductor chips, *Chemphyschem.*, **3**:276-84.
- Karlsson, M. et al. (2002). Formation of geometrically complex lipid nanotube-vesicle networks of higher-order topologies. *PNAS*; Online Aug 16 Owe Orwars grupp, Biophysical Chemistry, MC2. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **99**:11573-78.
- Laubach, M. et al. (2000). Cortical ensemble activity increasingly predicts behaviour outcomes during learning of a motortask. *Nature*, **405**:567-71.
- Nanoscience and Nanotechnology: Shaping Biomedical Research June 2000 Symposium Report <http://www.becon.nih.gov/nanotechsympreport.pdf>
- Torimitsu, K. et al. (2002). Glutamate transients and neuronal bursts at multiple positions in a rat cortex and hippocampus induced by low magnesium, Gordon Research Conference Magnesium in Biochemical Processes and Medicine.
- Torimitsu, K. et al. (2001). Microfabricated devices for real-time measurement of in vivo and in vitro biomolecules. *Anal. Sci.*, **17**:437-39.
- Wessberg, J. et al. (2000). Real-time prediction of hand trajectory by ensembles of cortical neurons in primates *Nature*, **408**:361-65.

8 Miljösanering

- Andersson, E. (2001). Doktorsavhandling. Colonisation and PAH degradation by wood-rotting fungi in contaminated soil. Dept. of Biotechnology, Lund University.
- French, C.E. et al. (1999). Biodegradation of explosives by transgenic plants expressing pentaerythritol tetranitrate reductase. *Nat. Biotech.*, **17**:491-905

Giddings, G. (1998). The release of genetically engineered micro-organisms and viruses into the environment. *New Phytol.*, **140**:173-84.

Lenski, R.E. (1993). Evaluating the fate of genetically modified microorganisms in the environment: are they inherently less fit? *Experientia*, **49**:201-09.

Ripp, S. et al. (2000). Controlled field release of a bioluminescent genetically engineered microorganism for bioremediation process monitoring and control. *Environ. Sci. Technol.*, **34**:846-53.

Hannink, N. et al. (2001). Phytodetoxification of TNT by transgenic plants expressing a bacterial nitroreductase. *Nat. Biotechnol.*, **19**:1168-72.

9 Biologiska energikällor

(2002). Special issue of selected papers, Biohydrogen (2002). *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**:1123-514.

10 Teknikutvecklingens inverkan på hotbilden avseende biologiska och kemiska stridsmedel

Alibek, A. (1999). *Biohazard*. Hutchinson, Random House UK Ltd.

Cello, J. et al. (2002). Chemical synthesis of poliovirus cDNA: Generation of infectious virus in the absence of natural template. *Science*. **297**:1016-18.

Fraser, C.M. och Dando, M.R. (2001). Genomics and future biological weapons: the need for preventive action by the biomedical community. *Nat. Genet.*, **29**:253-56.

Hiam, A. (1982). New biotechnologies suggest new weapons. The next generation of biological weapons. *Sci. People*, **14**:32.

Jackson, R.J. et al. (2001). Responses and overcomes genetic resistance to mousepox. *J. Virol.*, **75**:1205-10.

Pomerantsev, A.P. et al. (1997). Expression of cereolysine AB genes in *Bacillus anthracis* vaccine strain ensures protection against experimental hemolytic anthrax infection. *Vaccine*, **15**:1846-50.

Wheelis, M. (2002). Biotechnology and Biochemical Weapons. *The Nonproliferation Review*, **9**:48-53.

Wheelis, M. och Dando, M. (2000). New Technology and Future Developments in Biological Warfare. *Disarmament Forum*, nr 4:43-50.

Utgivare Totalförsvarets Forskningsinstitut - FOI 901 82 UMEÅ	Rapportnummer, ISRN FOI-R--0842--SE	Klassificering Användarrapport	
	Forskningsområde 3. Skydd mot massförstörelsevapen		
	Månad, år Maj 2003	Projektnummer E4821/A472	
	Verksamhetsgren 2. NBC-skyddsforskning		
	Delområde 34. B- och C-forskning		
Författare/redaktör Anders Bucht Britt-Marie Kihlberg Fredrik Piehl Göran Bucht Thomas Kjellström Artur Schmidtchen Leif Carlsson Urban Kumlin Anders Sjöstedt Mats Forsman Anders Lindblad Anders Söndén Anna Holmström Peter Lindblad Torbjörn Tjärnhage Inga Gustafson Susanne Lundberg Göran Wendiin Ann Göransson Nyberg Lena Norlander Per Wikström			
Projektledare Lena Norlander			
Godkänd av Åke Sellström			
Uppdragsgivare/kundbeteckning FM			
Tekniskt och/eller vetenskapligt ansvarig Lena Norlander			
Rapportens titel Biotekniken - ett expansivt forskningsområde med intressanta applikationer för totalförsvaret			
Sammanfattning (högst 200 ord) Rapporten ger en översikt av bioteknologins utveckling och dess applikationer inom en 15-årsperiod, med fokus på totalförsvarsintresset. En generell trend inom forskningsområden med bioteknikanknytning är utvecklingen av allt mer förfinade tekniker och synergieffekter mellan olika områden. Analysinstrument miniatyriseras och kan integreras till små enheter och det medför nya koncept för bl.a. klinisk diagnostik och för läkemedelsdistribution. Biotekniken har haft stor inverkan på utvecklingen av läkemedel och möjligheterna att förebygga, diagnosticera och behandla sjukdomar. Detta kommer att ytterligare förbättras som ett resultat av kartläggningen av människans och smittämns arvs massa. Biomaterial är en annan typ av applikation av biotekniken, t.ex. artificiellt blod och hud och nya saneringsmaterial. I framtiden kan nya multifunktionella textilfibrer framställas och biomaterial kan utnyttjas inom elektronikområdet. Funktionell föda i form av näringsberikade produkter och "ätbara" vacciner representerar andra utvecklingslinjer. Biotekniken har även inverkan på områden som bionedbrytning och utveckling av alternativa energikällor, t.ex. väteproducerande bakterier.			
Nyckelord Bioteknisk applikation, totalförsvarstillämpning, miniatyrisering, sjukdomsdiagnos, sjukdomsbehandling, biomaterial, funktionell föda, biotronik, biosanering, bakteriell energiproduktion.			
Övriga bibliografiska uppgifter	Språk Svenska		
ISSN 1650-1942	Antal sidor: 138.		
Distribution enligt missiv	Pris: Enligt prislista		

Issuing organization FOI – Swedish Defence Research Agency SE-901 82 UMEÅ	Report number, ISRN FOI-R--0842--SE	Report type User report
	Programme Areas 3. Protection against Weapons of Mass Destruction	
	Month year May 2003	Project No. E4821/A472
	General Research Areas 2. NBC Defence Research	
	Subcategories 34. Biological and Chemical Defence Research	
Author/s (editor/s) Anders Bucht Britt-Marie Kihlberg Fredrik Piehl Göran Bucht Thomas Kjellström Artur Schmidtchen Leif Carlsson Urban Kumlin Anders Sjöstedt Mats Forsman Anders Lindblad Anders Sondén Anna Holmström Peter Lindblad Torbjörn Tjämhage Inga Gustafson Susanne Lundberg Göran Wendin Ann Göransson Nyberg Lena Norlander Per Wikström	Project manager Lena Norlander	
	Approved by Åke Sellström	
	Sponsoring agency FM	
	Scientifically and technically responsible Lena Norlander	
	Report title (In translation) Biotechnology - an expansive research field with applications of high relevance for civilian and military defence	
Abstract (not more than 200 words) <p>The report presents an outline of the development in biotechnology and its applications in the course of 15 years and with focus on both civilian and military defence. A general trend in the research areas with connections to the biotechnological field is the development of more refined techniques and synergy effects between the various fields. Analytical instruments are miniaturized and integrated to small units and this development implies many new concepts, for example clinical diagnostics and distribution of drugs. The biotechnology has influenced the development of drugs and the means of preventing, diagnosing and treating diseases. This will be further improved as a result of the ongoing mapping of genomes of humans and micro-organisms.</p> <p>Biomaterials are other applications of the biotechnology, for example artificial blood and skin and new types of decontamination material. In the future new types of multifunctional textile fibers will be produced and biomaterials may be used in electronic devices. In addition functional foods, i.e. food with high nutritional value and oral vaccines, are easily obtained. The biotechnology also has impact on areas such as biodegradation and development of alternative energy sources, such as hydrogen producing bacteria.</p>		
Keywords Biotechnological applications, miniaturization, diagnostics, medical treatment, biomaterials, functional food, biodegradation, biotronics, bioenergy		
Further bibliographic information	Language Swedish	
ISSN 1650-1942	Pages p. 138	
	Price acc. to pricelist	